



SKRIPSI

**BIODEGRADASI PEWARNA TEKSTIL METIL
ORANGE OLEH JAMUR PELAPUK COKLAT
*Gloeophyllum trabeum***

**MOHAMMAD KHOIRUDIN
NRP 1410 100 077**

**Dosen Pembimbing
Adi Setyo Purnomo, M.Sc, Ph.D**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2015**



SCRIPT

BIODEGRADATION OF TEXTILE DYE METHYL
ORANGE BY BROWN ROT FUNGUS
Gloeophyllum trabeum

MOHAMMAD KHOIRUDIN
NRP 1410 100 077

Advisor Lecturer
Adi Setyo Purnomo, M.Sc, Ph.D

DEPARTMENT OF CHEMISTRY
FACULTY OF MATHEMATICS AND NATURAL SCIENCES
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2015

LEMBAR PENGESAHAN

SKRIPSI

BIODEGRADASI PEWARNA TEKSTIL METIL ORANGE OLEH JAMUR PELAPUK COKLAT

Gloeophyllum trabeum

Disusun sebagai syarat untuk menyelesaikan Program Studi S-1

Di Jurusan Kimia,

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya

Mohammad Khoirudin

NRP. 1410 100 077

Surabaya, 06 Februari 2015

Menyetujui :

Dosen Pembimbing,

Adi Setyo Purnomo, M.Sc, Ph.D

NIP. 19800724 200812 1 002

Mengetahui :

Ketua Jurusan Kimia,

Hamzah Fansuri, MSi., Ph.D

NIP. 19691017199412 1 001

BIODEGRADASI PEWARNA TEKSTIL METIL ORANGE OLEH JAMUR PELAPUK COKLAT *Gloeophyllum trabeum*

Nama : Mohammad Khoirudin
NRP : 1410100077
Jurusan : Kimia FMIPA - ITS
Dosen Pembimbing : Adi Setyo Purnomo, M.sc, Ph.D

Abstrak

Penelitian ini tentang biodegradasi pewarna tekstil metil orange (MO) oleh jamur pelapuk coklat *Gloeophyllum trabeum* dengan tujuan untuk mengetahui kemampuan *G. trabeum* dalam mendegradasi MO. Biodekolorisasi MO dilakukan pada media cawan agar *potato dextrose agar (PDA)* dengan variasi konsentrasi MO. *G. trabeum* mampu mendekolorisasi MO pada media cawan agar untuk konsentrasi 50, 75, dan 100 mg/L dengan masing-masing indeks dekolorisasi yaitu 0,75; 0,70 dan 0,56. Biodegradasi MO juga dilakukan pada media *potato dextrose borth (PDB)*. *G. trabeum* mampu mendegradasi MO sebesar 4,94% , 41,57%, dan 47,53% setelah diinkubasi selama 0, 7 dan 14 hari. Dari proses degradasi MO oleh *G. trabeum* dihasilkan metabolik produk yaitu 4- $\{[(4\text{-dimetilamin-3-hidroksi})\text{ fenil}] \text{ diazeni}\}$ benzensulfonat, 4- $\{[\text{fenilamin}] \text{ diazenil}\}$ benzensulfonat, 4- $\{[(4\text{-metilamin-3-hidroksi})\text{ fenil}] \text{ diazenil}\}$ benzenoksi, 4- $\{[(3,5\text{-dihidroksiamin})\text{ fenil}] \text{ diazenil}\}$ benzensulfonat, dan Hydroquinone. Penelitian mengindikasikan bahwa *G. trabeum* dapat digunakan untuk mendegradasi MO.

Kata kunci : Biodegradasi, Dekolorisasi, Metil orange, *Gloeophyllum trabeum*

**BIODEGRADATION OF TEXTILE DYE METHYL
ORANGE BY BROWN ROT FUNGUS *Gloeophyllum
trabeum***

Name : Mohammad Khoirudin
NRP : 1410100077
Department : Kimia FMIPA - ITS
Supervisor : Adi Setyo Purnomo, M.Sc, Ph.D

Abstract

The biodegradation of methyl orange (MO) dye by brown rot fungus *Gloeophyllum trabeum* was investigated. Biodecolorization of MO was conducted on potato dextrose agar (PDA) medium with a variation concentration of MO. *G. trabeum* had ability to decolorize MO on PDA medium in concentration of 50, 75, and 100 mg/L with each decolorization index (DI) of 0.75; 0.70 and 0.56 respectively. Biodegradation of MO was also conducted on potato dextrose borth (PDB) medium. *G. trabeum* degraded MO by 4.94%, 41.57%, and 47.53% after incubated for 0, 7 and 14 days, respectively. Detected metabolic products were 4-{[(4-dimethylamin-3-hydroxy) phenyl] diazenil} benzensulfonate , 4-{[phenylamin] diazenil} benzensulfonate, 4-{[(4-methylamin-3-hydroxy) phenyl] diazenil} benzenoxy, 4-{[(3,5-dihydroxyamin) phenyl] diazenil} benzensulfonate, and Hydroquinone. This study indicated that *G. trabeum* can be used to degrade MO.

Keywords: *Biodegradation, Decolorization, Methyl orange, Gloeophyllum trabeum*

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobbil'alamin. Puji syukur kehadiran Allah SWT yang selalu melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan naskah Tugas Akhir yang berjudul **“Biodegradasi Pewarna Tekstil Metil Orange oleh Jamur Pelapuk Coklat *Gloeophyllum trabeum*”**. Tulisan ini tidak akan terwujud tanpa bantuan, dukungan, doa serta dorongan semangat dari semua pihak. Untuk itu penulis sangat berterima kasih kepada:

1. Adi Setyo Purnomo, M.Sc, Ph.D selaku Dosen Pembimbing yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan selama proses penyusunan naskah Tugas Akhir ini.
2. Hamzah Fansuri, Ph.D. selaku Ketua Jurusan Kimia ITS atas fasilitas yang telah diberikan hingga naskah Tugas Akhir ini dapat terselesaikan.
3. Prof. Dr. Surya Rosa Saputra, MS selaku Kepala Laboratorium Kimia Mikroorganisme yang telah membantu secara administrasi dalam penyusunan Tugas Akhir ini.
4. Kedua orang tua yang selalu memberi dukungan, dan doa.
5. Teman-teman mahasiswa Kimia FMIPA ITS.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan naskah Tugas Akhir ini tidak lepas dari kekurangan, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk dapat meningkatkan kualitas dan perbaikan lebih lanjut. Semoga naskah ini dapat memberikan manfaat bagi penulis dan pembaca.

Surabaya, 25 Januari 2015

Penulis

DAFTAR ISI

| | |
|--|------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| LEMBAR PENGESAHAN | iv |
| ABSTRAK | vi |
| ABSTRACK..... | vii |
| KATA PENGANTAR..... | viii |
| DAFTAR ISI | ix |
| DAFTAR GAMBAR | xi |
| DAFTAR TABEL | xii |
| DAFTAR LAMPIRAN | xiii |
| BAB I PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 3 |
| 1.3 Batasan Masalah..... | 3 |
| 1.4 Tujuan | 3 |
| 1.5 Manfaat Penelitian..... | 3 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA..... | 5 |
| 2.1 Zat Warna Tekstil..... | 5 |
| 2.2 Senyawa Azo..... | 6 |
| 2.3 Pewarna Naftol | 7 |
| 2.4 Methyl Orange..... | 8 |
| 2.5 Bioremediasi..... | 9 |
| 2.6 Biodegradasi..... | 9 |
| 2.7 Jamur Pelapuk Coklat..... | 11 |
| 2.8 Reaksi Fenton..... | 11 |
| 2.9 Jalur degradasi MO | 13 |
| 2.10 Jamur <i>Gloeophyllum trabeum</i> | 15 |
| 2.10.1 Klasifikasi dan Morfologi <i>G. trabeum</i> | 15 |
| 2.10.2 Enzim Xilanase..... | 16 |
| 2.11 Metode Analisis..... | 17 |
| 2.11.1 Spektroskopi UV-Vis | 17 |
| 2.11.2 Kromatografi Cair / Spektrometri Massa (LC-MS) . | 20 |
| BAB III METODOLOGI PENELITIAN | 23 |

| | |
|---|----|
| 3.1 Alat dan Bahan | 23 |
| 3.1.1 Alat | 23 |
| 3.1.2 Bahan | 23 |
| 3.2 Prosedur Kerja | 23 |
| 3.2.1 Regenerasi Jamur <i>G. trabeum</i> | 23 |
| 3.2.2 Dekolorisasi MO oleh <i>G. trabeum</i> pada Media Padat | 23 |
| 3.2.3 Dekolorisasi MO oleh <i>G. trabeum</i> pada Media Cair | 24 |
| 3.2.4 Analisis Degradasi MO dan Metabolik Produknya | 25 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN | 27 |
| 4.1 Regenerasi Jamur <i>G. trabeum</i> | 27 |
| 4.2 Dekolorisasi MO oleh <i>G. trabeum</i> pada Media Padat | 28 |
| 4.3 Dekolorisasi MO oleh <i>G. trabeum</i> pada Media Cair | 31 |
| 4.4 Analisis Degradasi MO dan Metabolik Produk | 35 |
| BAB V KESIMPULAN DAN SARAN | 41 |
| 5.1 Kesimpulan | 41 |
| 5.2 Saran | 41 |
| Daftar Pustaka | 43 |
| Lampiran | 49 |
| Biodata Penulis | 73 |

DAFTAR GAMBAR

| | | |
|-------------|---|----|
| Gambar 2.1 | Struktur naftol | 8 |
| Gambar 2.2 | Struktur metil orange | 8 |
| Gambar 2.3 | Mekanisme radikal bebas dasar untuk reaksi Fenton dan Haber-Weiss | 12 |
| Gambar 2.4 | Reaksi dasar dan intermediet yang terlibat dalam reaksi Fenton berpusat logam | 13 |
| Gambar 2.5 | Jalur degradasi MO usulan Xiaolin Li | 14 |
| Gambar 2.6 | Jalur degradasi MO usulan Ke Dai | 14 |
| Gambar 2.7 | Jalur degradasi MO dengan DD | 15 |
| Gambar 2.8 | <i>Gloeophyllum trabeum</i> | 16 |
| Gambar 2.9 | Instrument UV-Vis | 19 |
| Gambar 2.10 | Skema kerja UV-Vis | 20 |
| Gambar 2.11 | Diagram blok instrument HPLC | 21 |
| Gambar 4.1 | Kultur <i>G. trabeum</i> | 28 |
| Gambar 4.2 | Diameter dekolonisasi <i>G. trabeum</i> | 30 |
| Gambar 4.3 | Kurva absorbansi MO | 34 |
| Gambar 4.4 | Profil dekolorisasi MO pada Media cair | 35 |
| Gambar 4.5 | Kromatogram HPLC | 37 |
| Gambar 4.6 | Jalur degradasi MO oleh <i>G. trabeum</i> | 40 |

DAFTAR TABEL

| | |
|---|----|
| Tabel 2.1 Nama dan struktur kimia kromofor | 6 |
| Tabel 2.2 Jamur penghasil enzim xilanase | 18 |
| Tabel 4.1 Hasil rata-rata diameter miselium, diameter dekolorisasi MO oleh <i>G. trabeum</i> pada media cawan agar selama inkubasi 14 hari | 29 |
| Tabel 4.2 Data berat kering biomassa <i>G. trabeum</i> | 32 |
| Tabel 4.3 Persen dekolorisasi MO oleh <i>G. trabeum</i> | 35 |
| Tabel 4.4 Metabolik produk | 39 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|--|----|
| Lampiran A. Skema kerja | 49 |
| Lampiran B. Pengukuran dan perhitungan | 50 |
| Lampiran C. Analisa LC-MS | 67 |

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Industri tekstil dan produk tekstil merupakan salah satu bidang yang sangat berkembang di Indonesia. Perkembangan industri ini dapat dilihat dari nilai ekspor tekstil dan produk tekstil (TPT) yang terus meningkat. Tercatat pada tahun 2002 nilai ekspor TPT mencapai US\$ 2,02 miliar, kemudian meningkat menjadi US\$ 8,40 miliar pada tahun 2009. Dengan semakin meningkatnya nilai ekspor TPT dari tahun ke tahun seperti ditunjukkan pada Tabel 1.1. menjadikan industri ini sebagai sumber devisa negara yang penting (Qodri, 2011).

Terlepas dari peranannya sebagai komoditi ekspor yang diandalkan, ternyata industri tekstil ini menimbulkan masalah yang serius bagi lingkungan terutama masalah yang diakibatkan oleh limbah cair yang dihasilkan. Industri tekstil mengeluarkan air limbah dengan parameter BOO, COD, padatan tersuspensi dan warna yang relatif tinggi (Sugiharto, 1987). Disamping itu limbah cair ini dapat pula mengandung logam berat yang bergantung pada zat warna yang digunakan. Umumnya tujuan dari pengolahan limbah cair industri tekstil adalah mengurangi tingkat polutan organik, logam berat, padatan tersuspensi dan warna sebelum dibuang ke badan air. Pada saat ini polutan di Indonesia tidak memasukkan warna sebagai parameter yang diatur. Walaupun demikian, limbah yang mengandung warna seringkali menimbulkan kesulitan dalam penggunaan selanjutnya dalam masalah estetika (Sugiharto, 1987).

Zat warna banyak digunakan pada proses pencelupan dan pencapan industri tekstil. Limbah cair dari kedua proses ini merupakan salah satu sumber pencemaran air yang cukup tinggi jika tidak dilakukan pengolahan limbah. Teknologi pengolahan limbah cair baik secara biologi, kimia, fisika, maupun kombinasi

antara ketiga proses tersebut dapat digunakan untuk mengolah limbah cair Industri tekstil (Maizatisna, 2007).

Beberapa penelitian penghilangan warna dan senyawa organik yang ada dalam limbah cair industri tekstil telah banyak dilakukan, misalnya dengan cara kimia menggunakan koagulan, secara fisika dengan sedimentasi, adsorpsi dan lain-lain. Namun efisiensi penghilangan warna melalui proses ini seringkali tidak memuaskan. Penghilangan warna secara kimia menggunakan koagulan akan menghasilkan lumpur (sludge) dalam jumlah yang relatif besar. Lumpur yang dihasilkan ini akhirnya akan menimbulkan masalah baru bagi unit pengolahan limbah (Maizatisna, 2007). Menurut Peraturan Pemerintah No. 19 tahun 1994, lumpur yang dihasilkan industri tekstil diklasifikasikan sebagai limbah B3, sehingga membutuhkan pengolahan limbah lebih lanjut terhadap lumpur yang terbentuk. Dengan adanya penanganan lanjutan ini akan menaikkan biaya operasional unit pengolahan limbah. Penggunaan karbon aktif untuk menghilangkan warna juga memerlukan biaya yang cukup tinggi karena harga karbon aktif relatif mahal. Untuk mengatasi masalah di atas diperlukan alternatif baru untuk mengolah limbah cair industri tekstil yang efektif dan efisien dalam menurunkan polutan organik dan zat warna (Nugroho, *et al.*, 2013).

Salah satu metode yang ditawarkan untuk menangani limbah ini adalah penanganan dengan cara biologis. Selain metodenya yang lebih sederhana, penanganan dengan cara ini juga dinilai cukup efisien dan cukup murah. Metode yang digunakan dalam cara biologis yaitu dengan metode biodegradasi (Purnomo, *et al.*, 2010). Pada metode ini penanganan limbah dilakukan dengan memanfaatkan aktifitas biologis dari mikroorganisme dalam mendegradasi limbah pewarna tekstil (Purnomo, *et al.*, 2010).

Salah satu mikroorganisme yang dapat digunakan dalam biodegradasi adalah jamur pelapuk coklat. Kemampuan jamur pelapuk coklat mendegradasi limbah dikarenakan jamur jenis ini mampu menggunakan reaksi ekstraseluler H_2O_2 dengan Fe^{2+}

yang dikenal dengan reaksi Fenton yang terbukti mampu mendegradasi senyawa-senyawa aromatik (Purnomo, *et al.*, 2010).

Salah satu jamur pelapuk coklat yang mampu menggunakan reaksi Fenton ini adalah *Gloeophyllum trabeum*. Hingga saat ini telah banyak dilakukan penelitian tentang biodegradasi dengan menggunakan jamur ini, salah satunya adalah degradasi DDT (Purnomo, *et al.*, 2010), dan degradasi pewarna metil biru (Arif, 20014). Berdasarkan uraian diatas, maka perlu diuji kemampuan jamur *G. trabeum* dalam mendegradasi pewarna tekstil yaitu metil orange (MO).

1.2. Rumusan Masalah

Permasalahan pada penelitian ini adalah seberapa besar *G. trabeum* dapat mendegradasi MO dan metabolit produk apa yang dihasilkan.

1.3. Batasan Masalah

Permasalahan pada penelitian ini dibatasi pada variasi konsentrasi MO 50, 75 dan 100 mg/L. Degradasi MO dilakukan dalam waktu 14 hari pada suhu 30°C. Penggunaan media PDA sebagai uji kualitatif dan media cair PDB sebagai uji kuantitatif.

1.4. Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan kemampuan jamur pelapuk coklat *G. trabeum* dalam mendegradasi pewarna tekstil MO, serta mengidentifikasi metabolik produk yang dihasilkan.

1.5. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini antara lain :

1. Memberikan data ilmiah mengenai kemampuan jamur *G. trabeum* dalam mendegradasi pewarna tekstil MO.
2. Memberikan referensi dan alternatif yang aktual mengenai penanganan limbah pewarna tekstil.

3. Memberikan solusi alternatif penanganan masalah nasional khususnya limbah pewarna dengan menggunakan jamur *G. trabeum* sebagai metode yang murah, aman, cepat dan efektif.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Zat Warna Tekstil

Penggunaan zat warna dewasa ini meningkat sejalan dengan semakin meningkatnya penggunaan bahan tekstil, makanan maupun obat-obatan. Salah satu proses penting dalam tahap penyempurnaan bahan tekstil adalah proses pewarnaan (Nugroho, *et al.*, 2013). Pemakaian zat warna yang bertujuan untuk memperindah bahan tekstil ternyata membawa dampak bagi kelestarian lingkungan. Molekul zat warna merupakan gabungan dari zat organik tidak jenuh dengan kromofor sebagai pembawa warna dan auksokrom sebagai pengikat warna dengan serat. Zat organik tidak jenuh yang dijumpai dalam pembentukan zat warna adalah senyawa aromatik antara lain senyawa hidrokarbon aromatik dan turunannya, fenol dan turunannya serta senyawa-senyawa hidrokarbon yang mengandung nitrogen.

Gugus kromofor adalah gugus yang menyebabkan molekul menjadi berwarna. Pada Tabel 2.1 dapat dilihat beberapa nama gugus kromofor dan memberi daya ikat terhadap serat yang diwarnainya.

Gugus auksokrom terdiri dari dua golongan, yaitu:

Golongan kation : $-NH_2$; $-NH$; $-NR_2$ seperti $-NR_2Cl$.

Golongan anion : $-SO_3H$; $-OH$; $-COOH$ seperti $-SO_3^-$; dan lain-lain.

Berdasarkan sumbernya, pewarna dibagi menjadi dua yaitu pewarna alam dan pewarna sintetik. Pewarna alam adalah zat warna atau pewarna alami yang berasal dari tumbuh-tumbuhan, sedangkan zat warna sintetik adalah zat warna turunan hidrokarbon aromatik seperti benzen, toluena dan naftalen. Nama dan struktur kimia kromofor ditunjukkan oleh Tabel 2.1.

Tabel 2.1. Nama dan Struktur Kimia Kromofor

| Nama Gugus | Struktur Kimia |
|------------------------|-------------------------------|
| Nitroso | NO atau (-N-OH) |
| Nitro | NO ₂ atau (NN-OOH) |
| Grup Azo | -N=N- |
| Grup Etilen | — C = C — |
| Grup Karbonil | — C = O |
| Grup Karbon – Nitrogen | -C=NH ; CH=N- |
| Grup Karbon Sulfur | -C=S ; -C-S-S-C- |

Berdasarkan pada proses pewarnaan, zat warna digolongkan sebagai berikut pewarna reaktif, pewarna dispersi, pewarna direk, pewarna vat, pewarna belerang, pewarna dasar, pewarna asam dan pewarna solven. Penggolongan pewarna menurut “*Colours Index*” volume 3, yang terutama menggolongkan atas dasar sistem kromofor yang berbeda misalnya kromofor Azo, kromofor Antrakuinon, kromofor Indigo, kromofor pewarna kationik, kromofor polimetine, kromofor Di- dan Tri-ArilKarbonium, kromofor phthalocyanine, kromofor senyawa sulfur, kromofor kompleks logam dan lain-lain (Manurung, *et al.*, 2004).

2.2 Senyawa azo

Pewarna azo merupakan pewarna sintetik yang pertama kali ditemukan oleh Peter griess dimana pewarna azo penggunaannya sangat peting, karena lebih dari 50% pewarna azo digunakan dalam semua pewarna komersial, seperti tekstil, kulit, makanan, kosmetik dan plastik. Pewarna azo sedikitnya terdiri atas kelompok satu azo yang mengandung gugus (-N=N-), golongan azo yang mengandung 2 kromofor disebut diazo (disazo), golongan azo yang mengandung tiga kromofor disebut triazo (trisazo), golongan azo yang mengandung empat kromofor

disebut (tetrakisazo) dan apa bila lebih disebut poliazo (poliazo). Kelompok azo terikat oleh dua kelompok atau sedikitnya satu, tetapi biasanya adalah dua aromatik (Manurung, *et al.*, 2004).

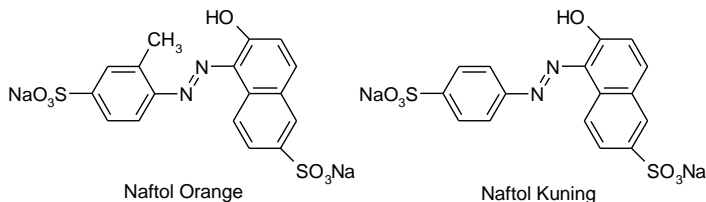
Kromofor zat warna reaktif biasanya merupakan sistem azo dan antrakuinon dengan berat molekul relatif kecil. Daya serap terhadap serat tidak besar, sehingga zat warna yang tidak bereaksi dengan serat mudah dihilangkan. Gugus-gugus penghubung dapat mempengaruhi daya serap dan ketahanan zat warna terhadap asam atau basa. Gugus-gugus reaktif merupakan bagian-bagian dari zat warna yang mudah lepas. Dengan lepasnya gugus reaktif ini, zat warna menjadi mudah bereaksi dengan serat kain. Pada umumnya agar reaksi dapat berjalan dengan baik maka diperlukan penambahan alkali atau asam sehingga mencapai pH tertentu (Manurung, *et al.*, 2004).

2.3 Pewarna Naftol

Zat warna naftol atau azoic merupakan zat warna yang pembentukan zat warnanya terbentuk dari hasil reaksi naftol dengan garam diazonium. Berbeda dengan pembentukan warna dari zat warna mordan, zat warna naftol tidak menggunakan oksida logam namun menghasilkan warna yang cerah (Ardiani, 2010)

Zat warna naftol dibedakan menjadi dua yaitu Beta Naftol dan Naftol As. Beta naftol merupakan pewarna azo yang telah lama ditemukan. Pewarna jenis beta naftol memiliki warna yang terbatas yaitu merah. Untuk warna yang lain seperti orange, biru dan hijau masih jarang ditemukan. Senyawa beta naftol memiliki ketahanan luntur yang baik dan juga tahan panas tetapi tidak terlalu tahan terhadap gosokan. Pewarna naftol jenis naftol as merupakan pewarna azo yang baru ditemukan. Pewarna jenis tersebut memiliki jumlah warna yang cukup banyak, bahkan hampir semua warna ada. Pewarna jenis naftol as ini memiliki kelebihan tahan terhadap gosokan dan mampu memberikan hasil celupan yang baik karena mempunyai daya serap terhadap

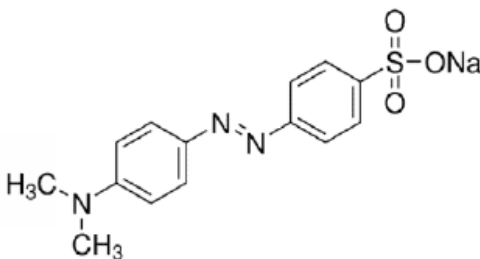
selulosa (Nugroho, *et al.*, 2013). Struktur naftol ditunjukkan oleh gambar 2.1.



Gambar 2.1. Struktur Naftol (Nugroho, *et al.*, 2013).

2.4 Metil Orange

Metil orange (MO) merupakan molekul zat warna dengan rumus molekul $C_{14}H_{14}N_3NaO_3S$ dan mempunyai berat molekul 327,33 g/mol. Panjang gelombang maksimum larutan MO adalah sekitar 465 nm (Nugroho, *et al.*, 2013). MO termasuk jenis zat warna azo. Zat warna azo mempunyai system kromofor dari gugus azo ($-N=N-$) yang berikatan dengan gugus aromatik. Struktur MO dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2. Struktur metil orange (Nugroho, *et al.*, 2013).

MO digunakan sebagai pewarna tekstil, dalam industri gelas, dan cat (Bollag, 1992). Sedangkan di laboratorium digunakan sebagai indikator titrasi. Trayek pH MO berkisar 3,0 hingga 4,4.

2.5 Bioremediasi

Bioremediasi adalah proses pemulihan zat berbahaya yang terkontaminasi dalam tanah dan lingkungan lainnya menggunakan organisme hidup terutama mikroorganisme seperti bakteri dan jamur. Sistem enzimatik dari organisme digunakan untuk mengubah atau menurunkan senyawa beracun menjadi kurang beracun. Hasil dari mineralisasinya menjadi bentuk anorganiknya, misalnya CO_2 , NH_4^+ , dan PO_3^{2-} (Udiharto, 1996). Proses bioremediasi dipengaruhi beberapa faktor yaitu pH, suhu, kandungan air, karakteristik tanah, nutrisi, akseptor elektron, ketersediaan kontaminan dalam populasi mikroba (Bioavailability), dan populasi mikroba yang mampu mendegradasi polutan. Bioremediasi dibagi menjadi dua yaitu in situ dan ex situ. In situ bioremediasi adalah teknik bioremediasi yang dilakukan langsung pada lokasi kontaminasi dengan faktor penghambat yang minimal. Beberapa teknologi bioremediasi in situ antara lain bioventing, Biosparging, dan Bioaugmentation. Sedangkan ex situ bioremediasi adalah bioremediasi yang dilakukan ditempat yang lain seperti di laboratorium land farming dan bioreaktor (Yani, 2003).

2.6 Biodegradasi

Biodegradasi merupakan salah satu cabang dari bioremediasi dimana memanfaatkan aktivitas mikroorganisme dalam menguraikan senyawa-senyawa besar/kompleks menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana sehingga lebih ramah lingkungan (Yani, 2003). Mikroorganisme yang dapat digunakan dalam biodegradasi adalah mikroorganisme yang memiliki kemampuan memanfaatkan senyawa organik alami sebagai sumber energi serta mampu menghasilkan enzim yang mampu mendegradasi. Proses dekomposisi atau penguraian yang terjadi

umumnya akan menghasilkan karbondioksida, metan, air, biomassa mikroba dan hasil sampingan yang lebih sederhana dibandingkan dengan senyawa awal yang didegradasi (Eris, 2006). Dalam beberapa kasus pencemaran lingkungan, biodegradasi dapat berlangsung secara alamiah. Hal tersebut disebabkan karena adanya mikroorganisme yang telah beradaptasi untuk mendegradasi polutan pada lingkungan tersebut. Adanya adaptasi tersebut ditandai dengan peningkatan laju biodegradasi polutan oleh mikroorganisme (Bollag, 1992).

Dalam melakukan biodegradasi ada beberapa faktor yang mempengaruhi agar biodegradasi dapat berjalan optimal antara lain kadar air, suhu, pH tanah dan kadar oksigen. Kadar air sangat penting dalam proses biodegradasi, hal ini dikarenakan untuk mendegradasi mikroorganisme yang digunakan harus berada pada tingkat kelembaban tertentu. Kelembaban optimum untuk melakukan biodegradasi adalah 30-90% kapasitas penyangga air. Kelembaban yang terlalu rendah menyebabkan kekeringan dan apabila terlalu tinggi akan mengurangi penyediaan oksigen (Dibble dan Bartha, 1979). Dalam proses biodegradasi suhu lingkungan juga mempengaruhi proses dari biodegradasi, hal ini dikarenakan suhu lingkungan mempengaruhi kemampuan mikroorganisme dalam mendegradasi dimana suhu tersebut dapat mempengaruhi reaksi-resaksi biokimia yang terjadi (Atlas, 1981). Hal lain yang mempengaruhi proses biodegradasi yaitu pH tanah. pH tanah mempengaruhi laju biodegradasi baik secara langsung maupun tidak langsung. Bakteri umumnya tumbuh dengan baik pada pH 6,0-8,0. Secara tidak langsung akan mempengaruhi naik atau turunnya ketersediaan nutrisi khususnya fosfor (Udiharto, 1996). Kadar oksigen juga menjadi salah satu faktor yang berpengaruh pada biodegradasi dikarenakan dalam biodegradasi oksigen dibutuhkan sebagai akseptor elektron hal ini disebabkan dasar proses biodegradasi adalah oksidasi. Kekurangan oksigen dapat menyebabkan laju biodegradasi menurun tajam (Cooney, 1984).

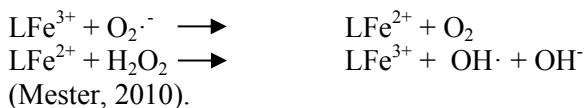
2.7 Jamur Pelapuk Coklat

Jamur pelapuk coklat merupakan jamur pelapuk kayu dengan cara menurunkan bagian selulosa dan hemiselulosa dari dinding sel kayu. Organisme ini mengurangi kekuatan kayu dengan segera setelah membentuk kolonisasi (Purnomo, *et al.*, 2010). Semua jamur pelapuk coklat termasuk dalam Basidiomycetes yang umumnya Polyporales dan sebagian besar berasosiasi dengan konifer. Tidak kurang terdapat 125 spesies jamur pelapuk coklat dan dikelompokkan ke dalam empat ordo yaitu Aphulphorales (Corticaceae, Coniophoraceae, Fistulinaceae, dan Polyporaceae), Agaricales, Tremellales, dan Dacrymycetales. Sebagian besar jamur pelapuk coklat tersebut merupakan kelompok Polyporaceae. Sekitar 85% jamur pelapuk coklat berasosiasi dengan inang kayu Gimnospermae (Cohen, *et al.*, 2001)

Basidiomycetes memiliki kemampuan luar biasa dalam proses depolymerize selulosa tanpa menghapus lignin. Selulosa yang telah terdegradasi oleh jamur pelapuk coklat menjadi spesi yang mengandung gugus karboksilat, hal ini menunjukkan bahwa agen oksidasi dari satu hidrolitik menyerang polimer (Cohen, *et al.*, 2001). Dalam mendegradasi kayu jamur pelapuk coklat memiliki mekanisme yang berbeda dengan jamur pelapuk putih. Jamur pelapuk putih menggunakan enzim lignolitik sedangkan jamur pelapuk coklat menggunakan reaksi ekstraseluler H_2O_2 dengan Fe^{2+} yang dikenal dengan reaksi Fenton (Purnomo, *et al.*, 2010).

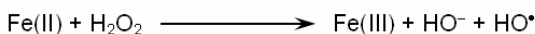
2.8 Reaksi Fenton

Reaksi Fenton adalah dekomposisi H_2O_2 yang dikatalisis oleh ion Fe^{2+} . Oksidasi reaksi Fenton bergantung pada rasio konsentrasi H_2O_2 dan Fe^{2+} . Dalam reaksi Fenton, ion besi yang terkoordinasi dengan ligan biologis (LFe^{2+}) dioksidasi oleh H_2O_2 membentuk LFe^{3+} , OH radikal, dan ion hidroksi dimana anion radikan ($\text{O}_2^{\cdot-}$) berperan sebagai agen pereduksi.

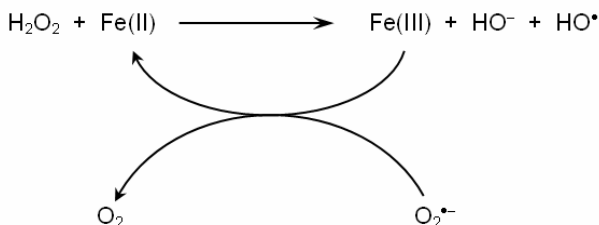


Mekanisme reaksi Fenton telah banyak diusulkan, salah satunya adalah reaksi Haber-Weiss yang dapat dilihat pada Gambar 2.3 dan 2.4 dibawah ini:

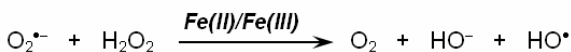
Fenton Reaction



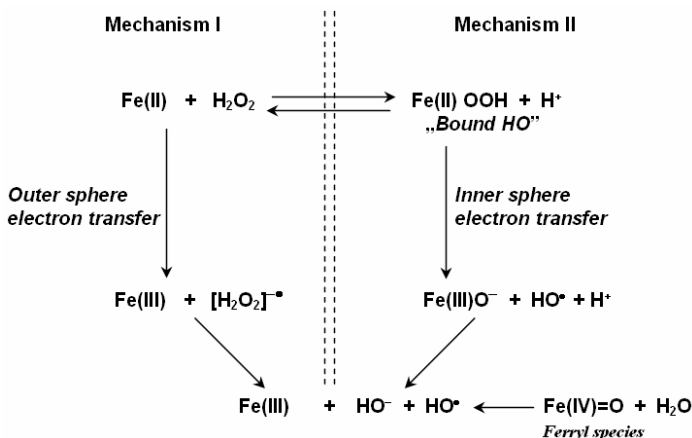
Haber–Weiss Reaction (Superoxide Driven Fenton Reaction)



Haber–Weiss Net Reaction



Gambar 2.3 Mekanisme radikal bebas dasar untuk reaksi Fenton dan Haber-Weiss (Mester, 2010)



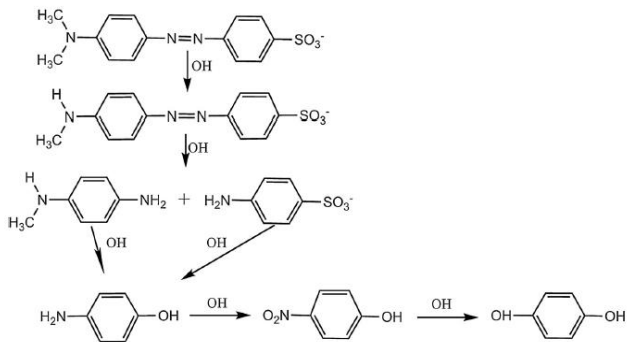
Gambar 2.4. Reaksi dasar dan intermediet yang terlibat dalam reaksi Fenton dan reaksi Fenton berpusat logam (Mester, 2010)

2.9 Jalur Degradasi MO

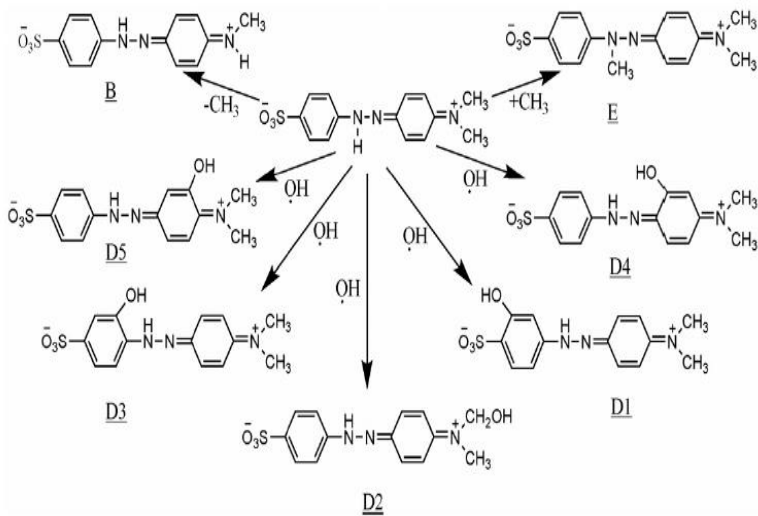
Degradasi MO telah dilakukan oleh beberapa peneliti. Xiaolin Li mendegradasi MO dengan metode elektrokimia dengan elektroda Ti. Penelitian ini menunjukkan bahwa MO dapat dioksidasi pada permukaan elektroda dengan potensial 1,3 V, selama 60 menit pada suhu 25°C dan pH 5. Jalur degradasinya ditunjukkan oleh Gambar 2.5.

Ke Dai melakukan penelitian tentang degradasi MO dengan fotokatalitik didalam suspensi yang mengandung nanopartikel titanium. Penelitian ini menunjukkan bahwa MO dapat terdegradasi 98% setelah 45 menit pada konsentrasi 1 g/L dan pH 2. Jalur degradasinya ditunjukkan oleh Gambar 2.6.

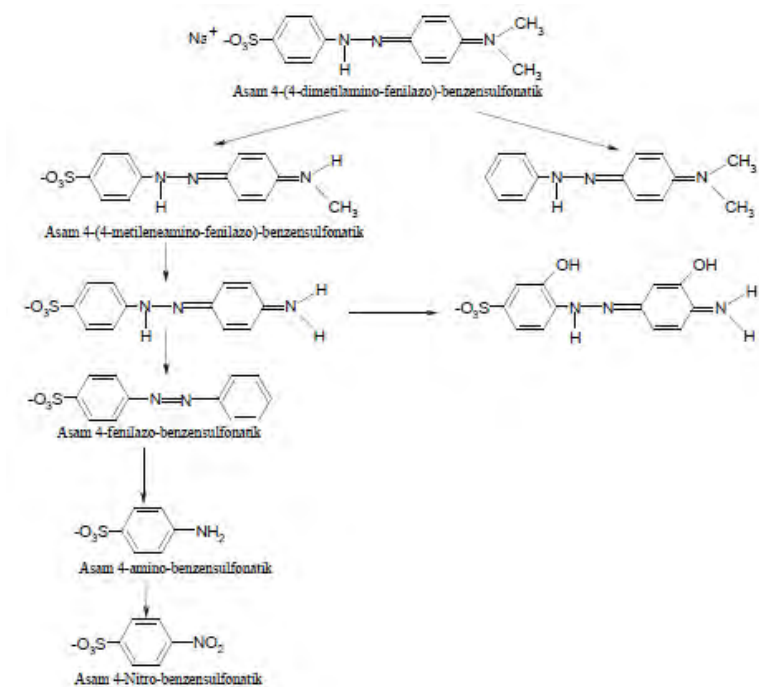
Maulidawati melakukan penelitian tentang biodegradasi MO dengan jamur pelapuk coklat *D. Dickinsii*, jalur degradasinya ditunjukkan oleh gambar 2.7.



Gambar 2.5. Jalur degradasi MO dengan elektrokimia
(Xiaolin Li, 2014)



Gambar 2.6. Jalur degradasi MO dengan fotokatalitik
(Dai, 2007)



Gambar 2.7. Jalur degradasi MO dengan jamur *D. Dickinsii* (Mauliddawati, 2014)

2.10 Jamur *Gloeophyllum trabeum*

2.10.1 Klasifikasi dan Morfologi *G. trabeum*

Gloeophyllum trabeum merupakan jamur pelapuk kayu dari golongan jamur pelapuk coklat. *G. trabeum* memiliki bentuk seperti kulit pohon dan tumbuh memanjang pada kayu yang telah gugur. Lebar permukaan *G. trabeum* bisa mencapai 3 cm dan panjang hingga 8 cm dengan ketebalan 8 mm (Hatakka, 1994). *G. trabeum* ditunjukkan oleh Gambar 2.8. Klasifikasi *G. trabeum* berdasarkan sistematika taksonominya adalah sebagai berikut:

- Kingdom : Fungi
- Phylum : Basidiomycota
- Class : Basidiomycetes
- Order : Polyporales
- Family : Gloeophyllaceae
- Genus : *Gloeophyllum*
- Spesies : *Gloeophyllum trabeum* (Hatakka, 1994).



Gambar 2.8. *Gloeophyllum trabeum* (Hatakka, 1994).

Gloeophyllum trabeum, menghasilkan beberapa enzim ekstraseluler untuk mendegradasi hemiselulosa dan selulosa amorf. Enzim endoglukanase dan xilanase diketahui merupakan enzim yang dihasilkan oleh *G. trabeum* dalam jumlah yang sangat besar. Enzim xilanase merupakan enzim yang berperan penting dalam peristiwa pelapukan kayu (Hatakka, 1994)

2.10.2 Enzim Xilanase

Enzim adalah molekul biopolymer yang tersusun dari serangkaian asam amino dalam komposisi dan susunan rantai yang teratur dan tetap. Enzim memegang peranan penting dalam berbagai reaksi di dalam sel. Sebagai protein, enzim diproduksi dan digunakan oleh sel hidup untuk mengkatalisis reaksi antara

lain konversi energi dan metabolisme pertahanan sel. Xilanase merupakan kelompok enzim yang memiliki kemampuan menghidrolisis hemiselulosa dalam hal ini ialah xilan atau polimer dari xilosa dan xilo-oligosakarida. Xilanase dapat diklasifikasikan berdasarkan substrat yang dihidrolisis, yaitu β -xilosidase, eksoxilanasase, dan endoxilanasase (Setliff, 1980).

β -xilosidase, yaitu xilanase yang mampu menghidrolisis xilooligosakarida rantai pendek menjadi xilo-sa. Aktivitas enzim akan menurun dengan meningkatnya rantai xilooligosakarida. Xilosa selain merupakan hasil hidrolisis juga merupakan inhibitor bagi enzim β -xilosidase. Sebagian besar enzim β -xilosidase yang berhasil dimurnikan masih menunjukkan adanya aktivitas transferase yang menyebabkan enzim ini kurang dapat digunakan industri penghasil xilosa. Eksoxilanasase mampu memutus rantai polimer xilosa (xilan) pada ujung reduksi, sehingga menghasilkan xilosa sebagai produk utama dan sejumlah oligosakarida rantai pendek. Enzim ini dapat mengandung sedikit aktivitas transferase sehingga potensial dalam industri penghasil xilosa. Endoxilanasase mampu memutus ikatan β 1-4 pada bagian dalam rantai xilan secara teratur. Ikatan yang diputus ditentukan berdasarkan panjang rantai substrat, derajat percabangan, ada atau tidaknya gugus substitusi, dan pola pemutusan dari enzim hidrolase tersebut (Setliff, 1980).

Xilanase umumnya merupakan protein kecil dengan berat molekul antara 15.000-30.000 Dalton, aktif pada suhu 55°C dengan pH 9. Pada suhu 60°C dan pH normal, xilanase lebih stabil. Jamur penghasil xilanase ditunjukkan oleh Tabel 2.2.

2.11 Metode Analisis

2.11.1 Spektroskopi UV-VIS

Pada spektrofotometer UV, sinar kontinyu dihasilkan oleh lampu awan muatan hidrogen atau deuterium (^2H), sedangkan sinar visible dihasilkan oleh lampu Wolfram. Panjang gelombang cahaya UV-Vis jauh lebih pendek daripada panjang gelombang radiasi IR. Panjang gelombang UV-Vis berada pada kisaran 180-

Tabel 2.2. Jamur penghasil enzim xilanase

| Jamur | Suhu tumbuh (°C) | Suhu optimum (°C) | pH | Berat molekul (kDa) |
|-------------------------------|-------------------------|--------------------------|-----------|----------------------------|
| <i>Aspergillus sp.</i> | 24-30 | 45-60 | 4,5-6 | 22-46,5 |
| <i>Aureobasidium sp.</i> | 28 | 45-54 | 4,5-4,8 | 20-25 |
| <i>Bipolaris sorokinana</i> | 28 | 70 | 5,5 | 30 |
| <i>Cryptococcus flavus</i> | 20 | 55 | 4,5 | 25 |
| <i>Fusarium oxysporium</i> | 26 | 50 | 5 | 80 |
| <i>Gloeophyllum trabeum</i> | 22 | 80 | 4 | 39 |
| <i>Humicola grisea</i> | 40 | 70 | 5,5 | 25,5 |
| <i>Myrothecium verrucaria</i> | 30 | 45 | 5,5 | 15 |
| <i>Neurospora crassa</i> | 28 | 50 | 4,8 | 33 |
| <i>Penicillium sp.</i> | 25 | 40 | 6 | 35 |
| <i>Trichoderma sp.</i> | 25-30 | 50-60 | 3,5-6,5 | 1,8-3,2 |

(Setliff, 1980).

800 nm. Prinsip dasar spektroskopi UV-Vis adalah terjadinya transisi elektronik yang disebabkan penyerapan sinar UV-Vis yang mampu mengeksitasi elektron dari orbital yang kosong. Umumnya, transisi yang paling mungkin adalah transisi pada tingkat tertinggi (HOMO) ke orbital molekul yang kosong pada tingkat terendah (LUMO). Pada sebagian besar molekul, orbital molekul terisi pada tingkat energi terendah adalah orbital σ yang berhubungan dengan ikatan σ , sedangkan orbital π berada pada tingkat energi yang lebih tinggi. Orbital non ikatan (n) yang mengandung elektron-elektron yang belum berpasangan berada pada tingkat energi yang lebih tinggi lagi, sedangkan orbital-orbital anti ikatan yang kosong yaitu σ^* dan π^* menempati

tingkat energi yang tertinggi. Terdapat dua jenis pergeseran pada spektra UV-Vis, yaitu pergeseran ke panjang gelombang yang lebih besar disebut pergeseran merah (red shift), yaitu menuju tingkat energi yang lebih rendah, dan pergeseran ke panjang gelombang yang lebih pendek disebut pergeseran biru (blue shift), yaitu menuju ke tingkat energi yang lebih tinggi (Ardiani, 2010). UV-Vis ditunjukkan oleh Gambar 2.9.



Gambar 2.9. Instrument UV-Vis (Ardiani, 2010).

Intensitas penyerapan dijelaskan dengan hukum Lambert-Beer, dimana fraksi cahaya yang diabsorpsi tidak tergantung pada kekuatan sumber cahaya mula-mula, dan fraksi yang diabsorpsi tergantung pada banyaknya mol (ketebalan/konsentrasi) yang dapat mengabsorpsi. Oleh karena itu, absorpsi cahaya merupakan fungsi dari molekul yang mengabsorpsi, maka cara yang tepat untuk menyatakan absorbansi adalah :

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

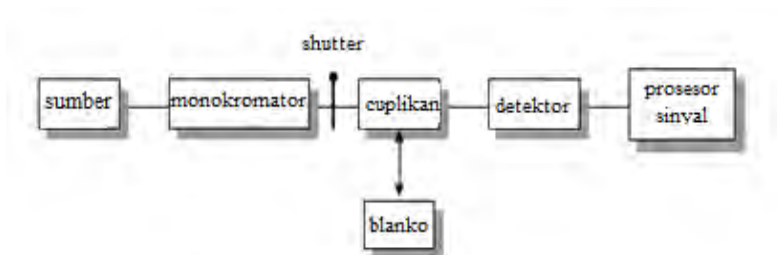
Dimana :

ϵ : absorptivitas molar ($\text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{L}$)

b : tebal lintasan (cm)

c : konsentrasi larutan (molL^{-1}).

Dengan menggunakan metode kurva kalibrasi, yaitu dengan membuat grafik absorbansi versus konsentrasi dapat diperoleh suatu kurva linier. Melalui pengukuran absorbansi suatu sampel dan menginterpolasikannya ke kurva kalibrasi, maka konsentrasi sampel dapat ditentukan (Basuki, 1994). Skema kerja UV-Vis ditunjukkan oleh Gambar 2.10.

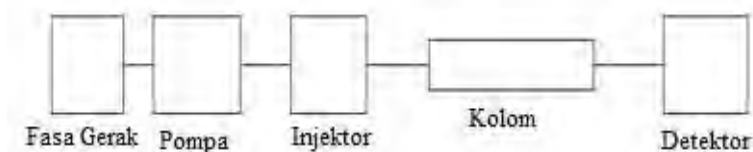


Gambar 2.10. Skema Kerja UV-Vis (Basuki, 1994).

2.11.2 LC-TOF/MS

Kromatografi cair kinerja tinggi atau *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) adalah teknik pemisahan campuran dan perbedaan kecepatan migrasi dari komponen-komponen dalam sampel yang terjadi karena adanya perbedaan kesetimbangan distribusi dalam fasa diam dan fasa gerak (Manurung, *et al.*, 2004). Mayoritas pemisahan HPLC menggunakan kromatografi fase terbalik, dimana fasa diam bersifat non polar yang umumnya berupa silika. Sedangkan fasa geraknya yaitu pelarut yang bersifat relatif polar seperti air, metanol, etanol dan aseton. Didalam HPLC, fasa diam dan fasa gerak dapat berinteraksi secara selektif dengan sampel (Ashari, 2013). Seperti yang terlihat pada Gambar 2.7 yaitu cuplikan diinjeksikan melalui loop, secara bersamaan fasa gerak dipompakan dengan kecepatan laju alir sesuai dengan yang diinginkan. Didalam kolom diameter 2-8 mm akan terjadi interaksi antara cuplikan, fasa diam dan fasa gerak. Interaksi ini yang berpengaruh pada waktu retensi komponen-komponen yang

dipisahkan, dimana waktu retensi menunjukkan lama sebuah komponen berada dalam kesetimbangan fase diam dan fase gerak sepanjang kolom. Komponen-komponen akan mengalami pemisahan dalam kolom berdasarkan polaritas dan komponen yang telah terpisah satu-persatu akan meninggalkan kolom. Selanjutnya komponen yang telah terpisah akan dideteksi oleh suatu detektor. Detektor yang digunakan dalam HPLC diantaranya detektor ultraviolet, fluoresensi dan flame ionisasi. Senyawa organik biasanya menyerap didaerah UV pada panjang gelombang 254 nm. Hasil dari pendektasian yaitu berupa kromatogram, artinya kumpulan-kumpulan puncak dimana satu puncak mewakili satu senyawa murni dengan intensitas tertentu (Manurung, *et al.*, 2004). Keunggulan menggunakan HPLC dibandingkan dengan yang lain yaitu dapat memisahkan senyawa-senyawa organik dengan baik dalam waktu singkat dan sempurna (Manurung, *et al.*, 2004).



Gambar 2.11. Diagram blok instrument HPLC (Manurung, *et al.*, 2004)

Senyawa yang telah terpisah dari instrumen HPLC akan ditangkap oleh detektor spektroskopi massa yang merupakan salah satu detektor untuk mempelajari massa atom atau molekul atau fragmen molekul. Spektroskopi massa yang digunakan adalah TOF-MS. Spektra yang dihasilkan adalah hasil pembacaan oleh detektor terhadap ion positif (M^+) sehingga diperoleh berat molekul muatan positif tersebut (m/z) pada spektrum massa. Berdasarkan hal tersebut, proses identifikasi senyawa dapat dilakukan dengan cara interpretasi spektra berdasarkan fragmen-fragmen khas yang dihasilkan (Mauliddawati, 2014). Kelebihan

menggunakan TOF antara lain keakuratan massa bisa mencapai < 2 ppm, rentang massa > 10.000 m/z, Resolving power mencapai 20.000, sensitivitas < 10 pg, kecepatan-spektra/detik bisa mencapai 40/detik (Mauliddawati, 2014).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Alat dan Bahan

3.1.1. Alat

Peralatan dan instrumentasi yang digunakan pada penelitian ini adalah jarum ose, gelas beaker, corong kaca, filter whatman no.42 diameter 125 mm, erlenmeyer, spons, cawan steril, labu ukur, neraca digital, botol ampul, pipet volume, pipet tetes, tabung valcon, *autoclave*, *sentrifugase*, oven, inkubator, spektrofotometer UV-Vis Genesys 10S dan LC/TOF-MS ULTIMATE 3000.

3.1.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: pewarna tekstil metil orange (MO) SAP, potato dextrose agar (PDA) MERCK, potato dextrose broth (PDB) MERCK, aseton, aqua DM, aquades, spiritus, ethanol 70%.

3.2. Prosedur kerja

3.2.1 Regenerasi Jamur *G. trabeum*

Penelitian ini menggunakan jamur pelapuk coklat jenis *G. trabeum* sebagai mikroorganisme pendegradasi. Jamur *G. trabeum* diperoleh dari koleksi jamur di Laboratorium Kimia Mikroorganisme Jurusan Kimia Fakultas FMIPA – Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya. Jamur *G. trabeum* diinokulasikan ke dalam cawan petri yang berisi media agar steril (PDA) dan diinkubasi pada suhu 30°C selama kurang lebih 14 hari sampai seluruh permukaan media agar tertutup oleh miselium jamur.

3.2.2 Dekolorisasi MO oleh *G. trabeum* pada media padat

Kultur jamur *G. trabeum* diinokulasikan menggunakan jarum ose (diameter 1 cm) ke dalam cawan petri berisi medium

yang merupakan campuran PDA dan pewarna MO dengan variasi konsentrasi 50, 75, dan 100 mg/L. Kultur diinkubasi selama 14 hari pada suhu 30°C. Selama masa inkubasi, semua kultur dihitung diameter miselium yang dihasilkan dan dekolorisasinya menggunakan penggaris setiap harinya. Pengukuran miselium dilakukan pada bagian permukaan cawan agar sedangkan pengukuran dekolorisasi dilakukan pada bagian dasar cawan agar. Sebagai kontrol positif, kultur jamur ditumbuhkan pada media cawan agar tanpa pewarna sedangkan untuk kontrol negatif, media cawan agar dengan MO tanpa jamur. Untuk menghitung indeks dekolorisasi sesuai dengan persamaan:

$$ID = \frac{DD}{DM}$$

Dimana :

ID adalah indeks dekolorisasi

DD adalah diameter dekolorisasi

DM adalah diameter miselium

3.2.3 Biodegradasi MO oleh *G. trabeum* pada Media Cair

Kultur jamur *G. trabeum* diinokulasikan menggunakan jarum ose (diameter 1 cm) ke dalam erlenmeyer berisi 10 ml medium PDB dan dipre-inkubasi selama 7 hari pada suhu 30°C. Satu mL MO dengan konsentrasi 75 mg/L ditambahkan ke dalam kultur hasil pre-inkubasi dan diinkubasi kembali selama 14 hari. Kultur pada hari ke 0, 7 dan 14 disentrifugasi selama 10 menit pada kecepatan 4000 rpm. Biomassa hasil sentrifugasi dicuci dengan aqua DM steril hingga zat warna yang melekat pada jamur hilang, selanjutnya dikeringkan dalam oven dan ditimbang. Supernatan diambil 1 ml dan diencerkan dalam 10 ml PDB, kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-750 nm. Sebagai kontrol, kultur jamur ditumbuhkan pada media PDB ditambah MO tanpa penambahan jamur. Untuk menghitung prosentase dekolorisasi pewarna MO sesuai persamaan:

$$\%PD = \frac{Abs_0 - Abst}{Abs_0} \times 100 \%$$

Dimana :

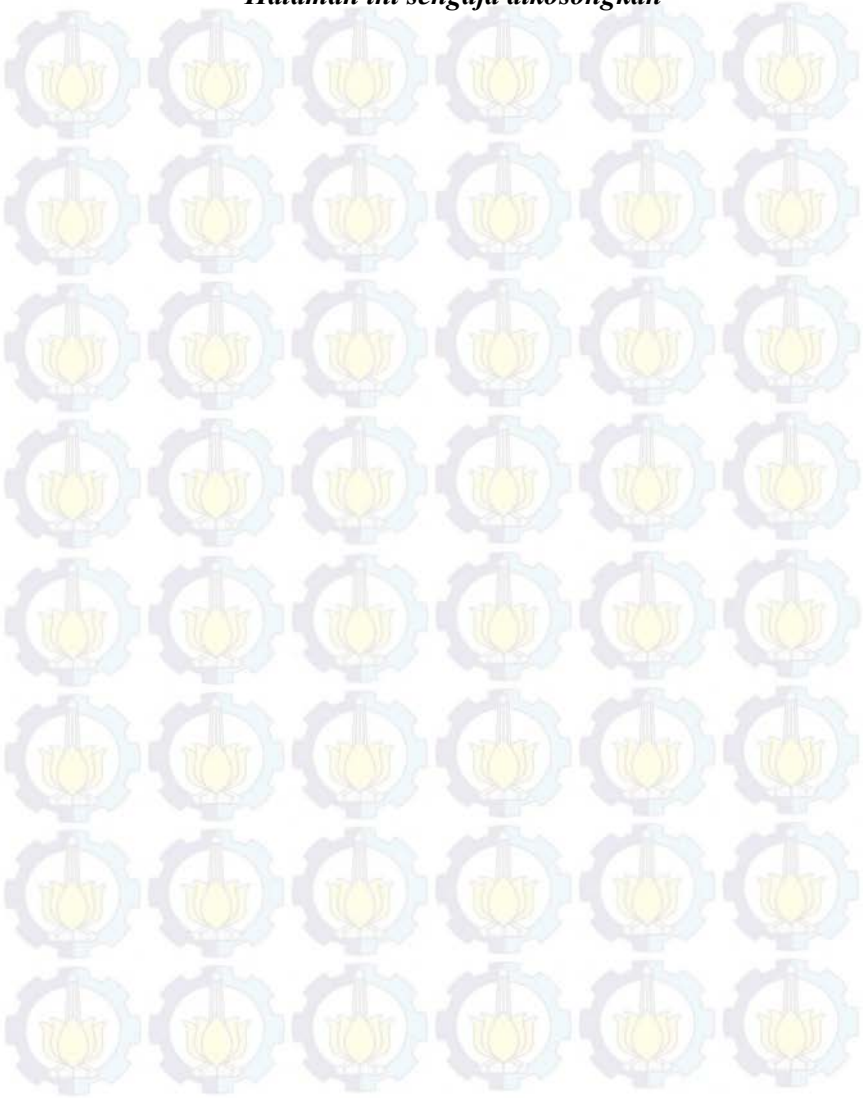
Abs_0 adalah absorbansi kontrol

Abs_t adalah absorbansi treatment

3.2.4. Analisis Degradasi MO dan Metabolit Produknya

Supernatan hasil sentrifugasi pada hari ke-14 dianalisis menggunakan LC-TOF MS. Spektrometer massa digunakan untuk mendeteksi senyawa metabolit degradasi yang dihasilkan. Sumber ionisasi yang digunakan adalah Elektrosprai ionisasi (ESI) dengan kisaran massa 50 – 350 m/z. Kolom yang digunakan adalah Acclaim™ RSLC 120 C18 2.1 × 100 mm dengan ukuran partikel 2.2 µm pada suhu kolom 33 °C. Fasa gerak yang digunakan adalah metanol dengan perbandingan 99:1 pada tiga menit awal dengan kecepatan laju alir sebesar 0,2 ml/menit dan 61:39 untuk tujuh menit dengan laju alir 0,4 ml/menit.

“ Halaman ini sengaja dikosongkan”



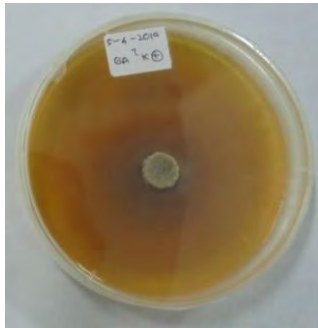
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Regenerasi Jamur *G. trabeum*

Penelitian ini menggunakan jamur pelapuk coklat *G. trabeum* yang diperoleh dari laboratorium Kimia Mikroorganisme, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya. Jamur ini kemudian diinokulasikan menggunakan jarum ose yang telah disterilisasi dengan autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C. Miselium kemudian diregenerasi kedalam cawan petri yang berisi media *Potato Dextrose Agar* (PDA). Alasan pemilihan PDA sebagai media inokulasi karena PDA memiliki kandungan nutrisi yang lengkap dan sesuai dengan kebutuhan jamur untuk proses pertumbuhannya yaitu pada setiap 100 g ekstrak kentang memiliki kandungan karbohidrat 19 g, protein 2 g, lemak 0,1 g, vitamin B1 0,09 mg, vitamin B2 0,03 mg, vitamin B3 1,4 mg, vitamin B6 0,25 mg, vitamin C 15 mg, kalium 421 mg, besi 0,7 mg, kalsium 12 mg, natrium 6 mg, fosfor 57 mg. Kandungan protein pada PDA ini berfungsi sebagai sumber nitrogen untuk sintesis asam amino. Asam amino hasil sintesis ini selanjutnya digunakan untuk mensintesis protein membentuk protoplasma, struktur sel, serta enzim-enzim yang dibutuhkan untuk metabolisme jamur itu sendiri (Ashari, 2013). Karbohidrat memiliki fungsi utama sebagai sumber karbon yang akan digunakan oleh jamur sebagai sumber energi selama proses metabolisme. Vitamin B kompleks dan unsur-unsur mineral akan digunakan sebagai katalis dan koenzim untuk memperlancar setiap proses metabolisme jamur (Ashari, 2013).

Inkubasi dilakukan selama 14 hari pada suhu 30°C sampai seluruh permukaan medium agar tertutupi miselium. Regenerasi *G. trabeum* dilakukan pada kondisi steril, bertujuan untuk menghindari mikroorganisme lain yang tumbuh pada cawan agar. Kultur *G. trabeum* ditunjukkan pada gambar 4.1.



Gambar 4.1 Kultur *G.trabeum*

4.2 Dekolorisasi Metil Orange oleh *G. trabeum* pada media padat

Penelitian biodegradasi pewarna MO oleh *G. trabeum* diawali dengan cawan agar yang berisi PDA dan pewarna MO sebagai media tanam jamur. Tujuannya adalah untuk membuktikan seberapa besar kemampuan jamur *G. trabeum* dalam mendegradasi pewarna MO serta untuk mengetahui konsentrasi optimal dari proses degradasi MO oleh *G. trabeum*. Kultur jamur *G. trabeum* diinokulasikan ke dalam cawan petri yang berisi campuran PDA dan MO dengan variasi konsentrasi 10, 25, 50, 75, 100, 300 dan 500 mg/L. Variasi konsentrasi 10 dan 25 mg/L terlalu encer, sedangkan variasi konsentrasi 300 dan 500 mg/L terlalu pekat sehingga perubahan warna dari hasil degradasi sulit diamati. Dari beberapa variasi konsentrasi tersebut, dipilih cawan agar dengan konsentrasi pewarna MO 50, 75, dan 100 mg/L yang akan digunakan dalam penelitian selanjutnya.

Pada penelitian ini Kultur jamur *G. trabeum* diinkubasi pada suhu 30°C, dikarenakan pada suhu tersebut pertumbuhan jamur memenuhi media. Kultur diinkubasi selama 14 hari, karena dalam waktu 14 hari miselium dari *G. trabeum* sudah menutupi seluruh permukaan cawan petri. Selama masa inkubasi, diameter miselium dan diameter degradasi diukur untuk mengetahui indeks degradasinya. Diameter miselium (DM) adalah data pertumbuhan

miselium jamur *G. trabeum*. Diameter dekolorisasi (DD) adalah data diameter pewarna MO yang telah terdegradasi oleh jamur *G. trabeum*. Indeks decolorisasi (ID) adalah perbandingan antara diameter jamur yang tumbuh dengan diameter degradasinya. Indeks degradasi inilah yang nantinya akan dijadikan acuan untuk menentukan seberapa besar kemampuan jamur *G. trabeum* dalam mendegradasi pewarna MO. Hasil pengukuran dekolorisasi MO pada media cawan agar dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil rata-rata diameter miselium, diameter dekolorisasi MO oleh *G. trabeum* pada media cawan agar selama inkubasi 14 hari.

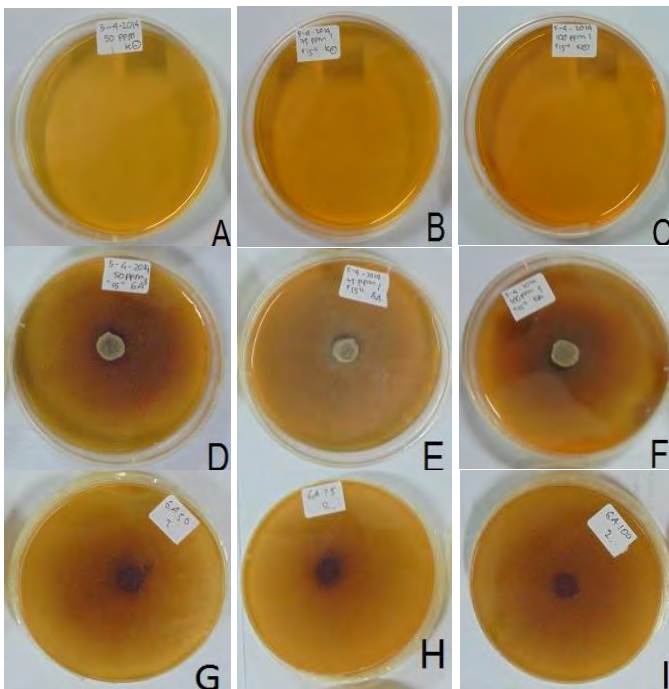
| Pengamatan | Kontrol | Konsentrasi (mg/L) | | |
|----------------------------|---------|--------------------|-------|-------|
| | | 50 | 75 | 100 |
| Diameter Miselium (cm) | 8,150 | 8,033 | 8,167 | 8,067 |
| Diameter Dekolorisasi (cm) | 0 | 6,067 | 5,733 | 4,533 |
| Indeks Dekolorisasi | 0 | 0,755 | 0,702 | 0,562 |

*Data yang ditampilkan merupakan nilai rata-rata dari tiga pengukuran (n=3)

Berdasarkan Tabel 4.1 diketahui bahwa setelah diinkubasi selama 14 hari, rata-rata pertumbuhan diameter miselium jamur *G. trabeum* pada kontrol positif sebesar 8,150 cm sedangkan pada media campuran PDA dengan pewarna MO variasi konsentrasi 50, 75, dan 100 mg/L masing-masing sebesar 8,033; 8,167 dan 8,067 cm. Dari tabel 4.1 juga dapat dilihat bahwa pertumbuhan jamur dengan keberadaan pewarna MO dengan konsentrasi tersebut di atas tidak terlalu jauh berbeda dibandingkan dengan kontrol positif sehingga dapat disimpulkan bahwa keberadaan pewarna MO tidak mempengaruhi pertumbuhan miselium *G. trabeum* pada media cawan agar secara

signifikan. Diameter dekolorisasi *G. trabeum* dapat dilihat pada Gambar 4.2.

Kemampuan jamur pelapuk coklat dalam mendegradasi kayu ditunjukkan oleh keluarnya asam oksalat pada media kulturnya (Mauliddawati, 2014). Akibat dari penumpukan asam oksalat ini akan mengubah pH yang menyebabkan degradasi selulosa non enzimatis melalui OH radikal (Mauliddawati, 2014).



Gambar 4.2 Diameter decolorisasi *G.trabeum* (a) Kontrol negatif 50 mg/L, (b) kontrol negatif 75 mg/L, (c) kontrol negatif 100 mg/L, (d,g) treatment 50 mg/L, (e,h) treatment 75 mg/L, (f,i) treatment 100 mg/L.

Pada penelitian ini perubahan warna media dari orange menjadi coklat adalah proses dari dekolorisasi. Gambar A sampai dengan C adalah media agar dengan konsentrasi 50 mg/L, 75 mg/L dan 100 mg/L pada hari ke 0, atau belum ditambahkan jamur *G. trabeum*. Dari Gambar 4.2 terlihat media masih berwarna orange. Sedangkan gambar D sampai dengan I adalah treatment dengan konsentrasi 50 mg/L, 75 mg/L dan 100 mg/L pada hari ke 14. Pada gambar ini terlihat ada perubahan warna menjadi sedikit coklat. Perubahan warna ini menunjukkan bahwa jamur *G. trabeum* mengeluarkan asam oksalat yang menyebabkan pH media menjadi asam (Mauliddawati, 2014). Berdasarkan Gambar 4.2, rata-rata diameter degradasi *G.trabeum* pada konsentrasi 50, 75 dan 100 mg/L adalah 6,067 cm; 5,733 cm dan 4,533 cm.

Untuk mengetahui kemampuan jamur *G. trabeum* dalam mendegradasi pewarna MO, maka dilakukan perhitungan Indeks Dekolorisasi (ID) dengan cara membandingkan diameter MO yang sudah terdegradasi (DD) dengan diameter miselium dari jamur *G. trabeum* (DM) pada masing-masing variasi konsentrasi 50, 75, dan 100 mg/L. ID selanjutnya digunakan sebagai acuan untuk menunjukkan kemampuan jamur dalam dekolorisasi MO pada media padat. Berdasarkan Tabel 4.1 menunjukkan bahwa ID tertinggi ditunjukkan pada konsentrasi 50 mg/L sebesar 0,755.

4.3 Biodegradasi MO oleh *G. trabeum* pada Media Cair

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan jamur *G. trabeum* dalam mendegradasi pewarna MO secara kuantitatif. Kultur jamur *G. trabeum* diinokulasikan dengan jarum ose (diameter 1 cm) ke dalam erlenmeyer berisi 10 ml medium *potato dextrose borth* (PDB). Pemilihan PDB sebagai medium dikarenakan PDB merupakan media paling cocok untuk perkembangan jamur pelapuk coklat (Purnomo, *et al.*, 2010).

Selanjutnya, kultur dipre-inkubasi selama 7 hari pada suhu 30°C, tujuannya adalah agar jamur beradaptasi terlebih dahulu dengan media PDB dan pertumbuhan miselium jamur bisa

tumbuh maksimal sebelum penambahan pewarna MO. Kemudian kedalam kultur ditambahkan 1 ml pewarna MO dengan konsentrasi akhir 75 mg/L. Selama proses inkubasi, dilakukan pengamatan pada kultur untuk mengetahui hasil degradasinya pada hari ke 0, 7, dan 14. Pengamatan ini dilakukan dengan instrument spektrofotometer UV-Vis.

Pengamatan dimulai dengan pemisahan media cair dan jamur terlebih dahulu dengan *sentrifuge* pada kecepatan 4000 rpm selama 10 menit. Biomassa jamur yang diperoleh dari hasil *sentrifuge* kemudian dicuci menggunakan aqua DM dan dikeringkan dalam oven, kemudian ditimbang sehingga diperoleh berat kering jamur pada hari ke 0, 7 dan 14 seperti yang terlihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Data berat kering biomassa *G. trabeum*

| Kultur/Hari ke | Berat kering biomassa (gram) |
|----------------|------------------------------|
| 0 | 0,018 |
| 7 | 0,020 |
| 14 | 0,026 |

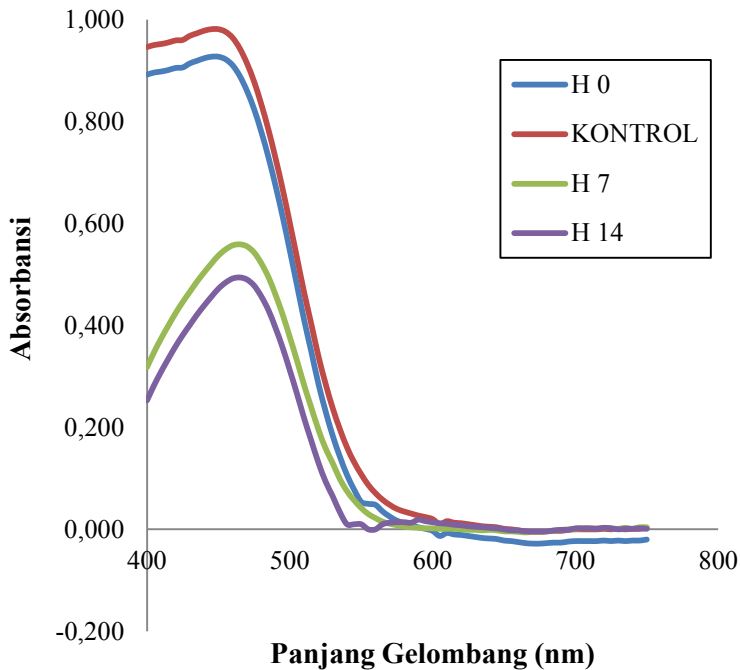
*Data yang ditampilkan merupakan nilai rata-rata dari tiga pengukuran (n=3)

Dari data tabel 4.2 dapat diketahui bahwa semakin lama waktu inkubasi berat biomassa juga semakin bertambah, hal ini mengindikasikan bahwa pertumbuhan miselium jamur *G. trabeum* tidak terhambat oleh adanya penambahan pewarna MO. Dari Tabel 4.2 juga dapat diketahui pertumbuhan miselium pada hari ke 7 kurang begitu signifikan jika dibandingkan dengan pertumbuhan miselium pada hari ke 14, hal ini dikarenakan pada hari ke 0–7 jamur masih beradaptasi dengan penambahan pewarna MO, sedangkan untuk hari ke 7-14 jamur sudah dapat beradaptasi dengan lingkungannya.

Filtrat dari hasil *sentrifuge* selanjutnya dilakukan pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Sebelum

melakukan analisis, filtrat terlebih dahulu diencerkan 10 kali dengan PDB. Tujuannya adalah agar ketika dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis konsentrasinya tidak terlalu pekat sehingga dapat terbaca oleh spektrofotometer UV-Vis. Filtrat hasil pengenceran selanjutnya dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400–750 nm. Pemilihan panjang gelombang ini karena merupakan panjang gelombang sinar tampak. Sebagai kontrol digunakan campuran PDB dengan MO dengan konsentrasi yang sama namun tanpa jamur untuk menentukan profil absorbansi awal sebelum terdegradasi oleh jamur. Grafik absorbansi hasil degradasi MO oleh *G. trabeum* ditunjukkan pada Gambar 4.3.

Gambar 4.3 menunjukkan grafik absorbansi hasil degradasi MO oleh *G. trabeum*. Dari grafik tersebut dapat diketahui bahwa panjang gelombang maksimumnya adalah 465 nm. Panjang gelombang tersebut merupakan panjang gelombang maksimum dari MO (Bollag, 1992). Berdasarkan gambar 4.3 dapat diketahui juga bahwa absorbansi degradasi hari ke 0 lebih rendah jika dibandingkan dengan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa pada hari ke 0 sebagian dari pewarna MO sudah terdegradasi. Penurunan absorbansi ini mengindikasikan bahwa pada masa preinkubasi, jamur *G. trabeum* dimungkinkan telah menghasilkan enzim-enzim seperti xilanase ataupun senyawa metabolik sekunder seperti hidroksi radikal dari reaksi Fenton yang dapat mendegradasi senyawa pewarna MO. Nilai absorbansi pada hari ke-7 dan 14 juga mengalami penurunan hal tersebut menunjukkan bahwa semakin lama masa inkubasi, maka semakin besar juga keberhasilan jamur *G. trabeum* didalam mendegradasi pewarna MO.



Gambar 4.3. Kurva Absorbansi hasil degradasi MO oleh *G.trabeum*

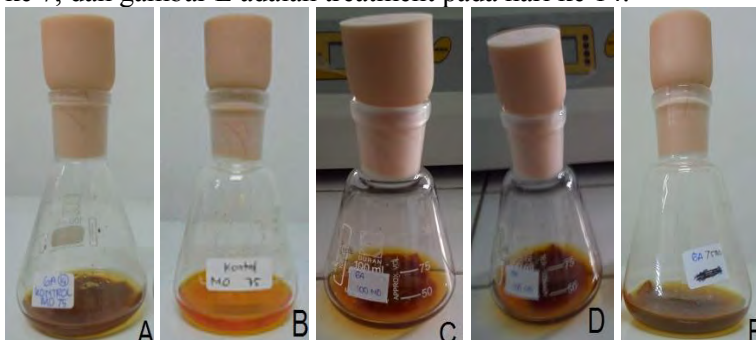
Keefektifan jamur *G. trabeum* didalam mendegradasi pewarna MO dapat ditentukan dari perhitungan persen dekolorisasi. Persen dekolorisasi MO oleh jamur *G. trabeum* ditunjukkan pada tabel 4.3. Dari tabel 4.3. diketahui persen dekolorisasi pada hari ke 0, 7 dan 14 sebesar 4,94% , 41,57%, dan 47,53%. Persen dekolorisasi terbesar terjadi pada hari ke 14. Dari tabel 4.3 dapat disimpulkan bahwa semakin lama waktu inkubasi, semakin besar pula keberhasilan *G. trabeum* didalam mendegradasi MO.

Tabel 4.3. Persen dekolorisasi MO oleh *G. Trabeum*

| Hari ke | Absorbansi kontrol | Absorbansi treatment | %PD |
|---------|--------------------|----------------------|--------|
| 0 | 0,991 | 0,942 | 4,940 |
| 7 | 0,991 | 0,579 | 41,570 |
| 14 | 0,991 | 0,520 | 47,530 |

*Data yang ditampilkan merupakan nilai rata-rata dari tiga pengukuran (n=3)

Perubahan warna MO ditunjukkan oleh gambar 4.4. Gambar A adalah media cair *G. trabeum* yang telah dipreinkubasi selama 7 hari, gambar B adalah pewarna MO tanpa penambahan jamur, gambar C adalah treatment degradasi pewarna MO dengan *G. trabeum* pada hari ke 0, gambar D adalah treatment pada hari ke 7, dan gambar E adalah treatment pada hari ke 14.



Gambar 4.4. Profil Dekolorisasi MO Pada Media Cair

Pada gambar C-E terlihat warna orange semakin pudar berubah menjadi coklat, hal ini menunjukkan bahwa proses degradasi semakin sempurna.

4.4 Analisis Degradasi MO dan Metabolit Produk

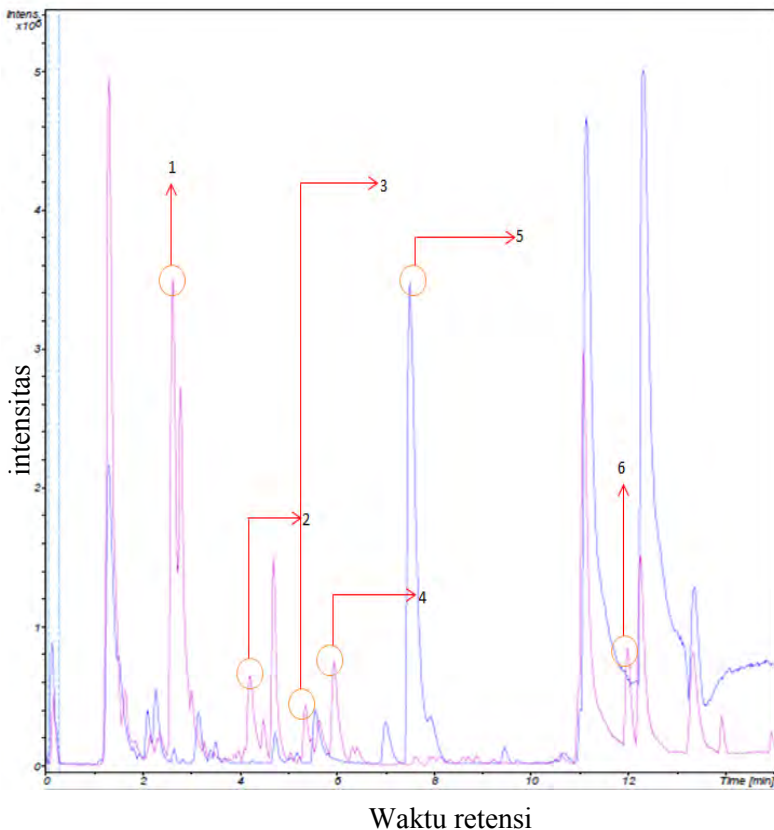
Supernatan hasil inkubasi pada hari ke 14 dianalisis menggunakan LC/TOF-MS untuk mengetahui jalur serta produk degradasinya. Analisis ini dilakukan di PT.Angler Biochemical

Lab, Surabaya. Dari analisa dengan LC-TOF MS didapatkan kromatogram seperti pada Gambar 4.5.

Senyawa-senyawa yang telah dipisahkan akan menunjukkan puncak-puncak dengan waktu retensi yang berbeda-beda. Kromatogram dengan warna biru adalah kontrol MO keluar pada waktu retensi 7,5 menit. Puncak MO dari hasil perlakuan(kromatogram warna merah) mempunyai intensitas lebih rendah dari kontrol dengan waktu retensi yang sama. Hal tersebut mengindikasikan bahwa jumlah MO yang terdapat pada perlakuan berkurang. Puncak-puncak yang lain merupakan metabolit produk yang dihasilkan dari degradasi. Senyawa-senyawa metabolit produk diidentifikasi berdasarkan m/z nya seperti yang ditunjukkan pada lampiran C.

Puncak-puncak yang didapat kemudian diidentifikasi dengan mencocokkan nilai m/z yang diperoleh dari library dengan m/z dari beberapa penelitian sebelumnya, sehingga diperoleh senyawa yang dianggap sebagai metabolit produk. Selain itu, spektra MS hasil analisis memiliki puncak dengan nilai m/z yang sama dengan m/z dari beberapa penelitian sebelumnya.

Puncak 1 dengan m/z 111 pada waktu retensi 2,6 menit merupakan senyawa *Hydroquinone*, asumsi didasarkan pada penelitian yang telah dilaporkan oleh Xioli Li pada tahun 2014. Puncak 2 dengan m/z 326 pada waktu retensi 4,22 menit merupakan senyawa 4- $\{[(3,5\text{-dihidroksiamin}) \text{fenil}] \text{ diazenil}\} \text{ benzensulfonat}$, asumsi ini didasarkan pada penelitian yang telah dilaporkan oleh Biaocchi pada tahun 2001. Puncak 3 dengan m/z 244 pada waktu retensi 5,35 menit merupakan senyawa 4- $\{[(4\text{-metilamin-3-hidroksi}) \text{fenil}] \text{ diazenil}\} \text{ benzenoksi}$, asumsi ini didasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh Biaocchi pada tahun 2001. Puncak 4 dengan m/z 320 pada waktu retensi 5,95 menit merupakan senyawa 4- $\{[(4\text{-dimetilamin-3-hidroksi}) \text{fenil}] \text{ diazenil}\} \text{ benzensulfonat}$, asumsi ini didasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh Biaocchi pada tahun 2001.




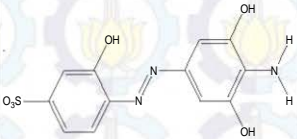
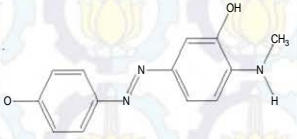
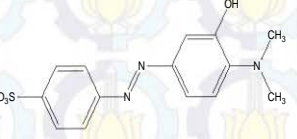
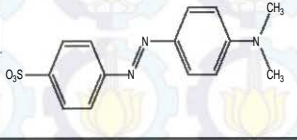
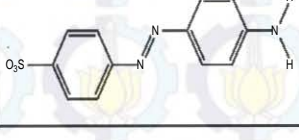
Gambar 4.5. Kromatogram HPLC dari biodegradasi MO oleh *G. trabeum*

Puncak 5 dengan Mr 306 pada waktu retensi 7,5 menit merupakan senyawa metil orange asumsi ini didasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh Ramirez pada tahun 2012. Puncak 6 dengan Mr 278 pada waktu retensi 11,97 menit merupakan senyawa 4-*[fenilamin] diazenil} benzensulfonat*. Asumsi ini didasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh Baiocchi pada tahun 2001.

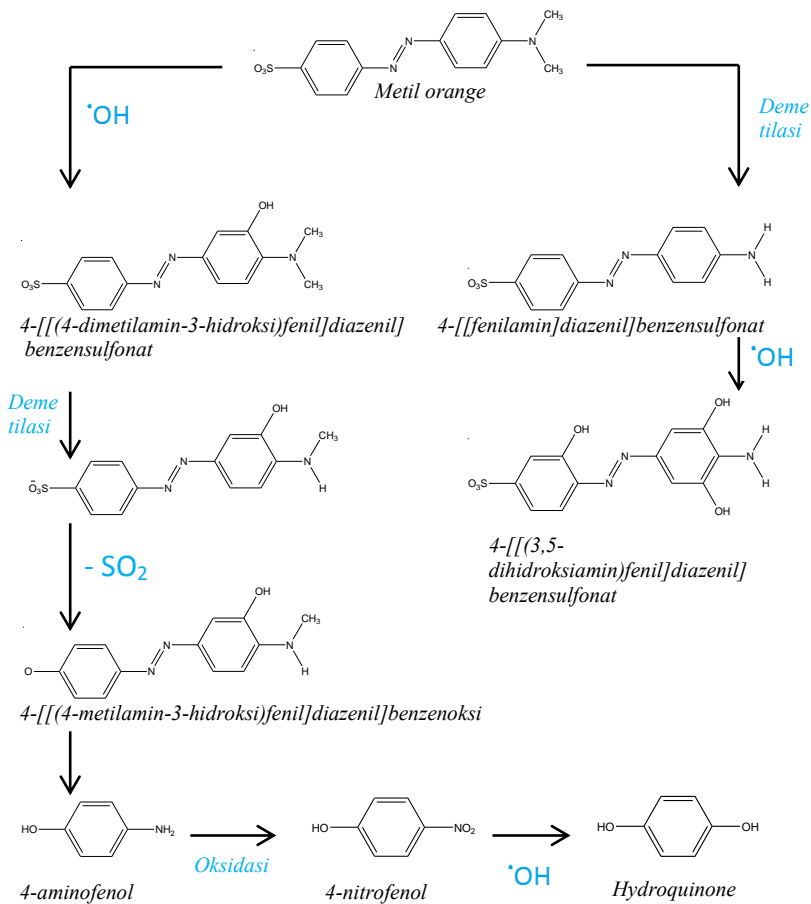
Berdasarkan hasil analisis metabolit produk yang dihasilkan menunjukkan kesamaan dengan metabolit produk pada jalur degradasi MO yang diusulkan oleh Baiocchi pada tahun 2010 menggunakan fotokatalitik, Ramirez pada tahun 2012 menggunakan oksidasi elektrokimia dan Xiaolin Li pada tahun 2014 menggunakan elektrokimia dengan elektroda Ti.

Berdasarkan hasil metabolik produk, diusulkan kemungkinan Jalur degradasi MO yang ditunjukkan pada Gambar 4.6. Dari hasil metabolik dimungkinkan ada dua jenis jalur. Pada jalur 1, MO mengalami demetilasi dan kehilangan dua gugus metil. Kehilangan dua gugus metil tersebut dimungkinkan karena adanya radikal hidroksi yang menyerang gugus metil pada MO sehingga membentuk senyawa 4-*{[fenilamin] diazenil} benzensulfonat* dengan m/z sebesar 278. Selanjutnya senyawa ini mengalami tiga reaksi substitusi OH pada kedua cincin benzen oleh radikal hidroksi dari reaksi fenton dan membentuk senyawa 4-*{[(3,5-dihidroksiamin) fenil] diazenil} benzensulfonat* dengan m/z sebesar 326. Pada jalur 2, MO mengalami reaksi substitusi OH pada salah satu cincin benzen oleh radikal hidroksi dari reaksi fenton dan membentuk 4-*{[(4-dimetilamin-3-hidroksi) fenil] diazenil} benzensulfonat* dengan m/z sebesar 320. Setelah mengalami substitusi OH, radikal hidroksi kembali menyerang salah satu gugus metil dan gugus sulfonat sehingga melepaskan SO₂ dan satu gugus metil membentuk 4-*{[(4-metilamin-3-hidroksi) fenil] diazenil} benzenoksi*. Selanjutnya radikal hidroksi kembali menyerang 4-*{[(4-metilamin-3-hidroksi) fenil] diazenil} benzenoksi* dan menyebabkan pemutusan ikatan azo 4-*aminofenol*. Tahap selanjutnya 4-*aminofenol* mengalami oksidasi terlebih dahulu membentuk 4-*nitrofenol* untuk mempermudah substitusi OH pada reaksi berikutnya. Terakhir, gugus OH dari radikal hidroksi kembali menyerang gugus nitro pada senyawa 4-*nitrofenol* menyebabkan lepasnya gugus nitro dikarenakan gugus hidroksi lebih nukleofil dan membentuk senyawa *Hydroquinone*.

Tabel 4.4 Senyawa MO dan Metabolit produk

| Puncak | Waktu Retensi | Mr | Rumus Molekul | Struktur Molekul |
|--------|---------------|-----|-------------------------|---|
| 1 | 2,6 | 111 | $C_6H_6O_2$ |  |
| 2 | 4,22 | 326 | $C_{12}H_{10}N_3O_6S^-$ |  |
| 3 | 5,35 | 244 | $C_{13}H_{12}N_3O_2^-$ |  |
| 4 | 5,95 | 320 | $C_{14}H_{14}N_3O_4S^-$ |  |
| 5 | 7,5 | 306 | $C_{14}H_{14}N_3O_3S^-$ |  |
| 6 | 11,97 | 278 | $C_{12}H_{10}N_3O_3S^-$ |  |

Perkiraan jalur degradasi MO menggunakan jamur *G. trabeum* ditunjukkan oleh Gambar 4.6.



Gambar 4.6 Perkiraan jalur degradasi MO oleh *G. trabeum*

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa *G. trabeum* dapat mendegradasi metil orange pada media padat PDA dan media cair PDB. Pada media padat (cawan agar) indeks dekolorisasi terbesar dari MO terjadi pada konsentrasi 75 mg/L. Dalam media cair, *G. trabeum* dapat mendegradasi MO sebesar 47,53 % selama 14 hari inkubasi. Dari proses degradasi MO oleh *G. trabeum* dihasilkan metabolik produk yaitu 4- $\{[(4\text{-dimetilamin-3-hidroksi}) \text{ fenil}] \text{ diazenil}\}$ benzensulfonat, 4- $\{[\text{fenilamin}] \text{ diazenil}\}$ benzensulfonat, 4- $\{[(4\text{-metilamin-3-hidroksi}) \text{ fenil}] \text{ diazenil}\}$ benzenoksi, 4- $\{[(3,5\text{-dihidroksiamin}) \text{ fenil}] \text{ diazenil}\}$ benzensulfonat, dan *Hydroquinone*.

5.2. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan kondisi optimal dari proses degradasi MO oleh jamur *G. trabeum*, seperti kondisi pH dan lamanya waktu inkubasi sehingga didapatkan jalur degradasi yang lebih akurat.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR PUSTAKA

- Alexopoulos, C., Mims, C., dan Blackwell, M., (1996), *“Introduction Mycology, Fourth Edotion”*, John Wiley and Sons Inc, New York.
- Ardiani, P., (2010), *“Efektivitas Katalis TiO₂ Dengan Pengemban Mg(OH)₂.5H₂O Pada Fotodegradasi Zat Warna Rhodamine B”*, Skripsi Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Ashari, K., (2013), *“Pengaruh Penambahan Pseudomonas aeruginosa Terhadap Biodegradasi DDT oleh Pleurotus ostreatus”*, ITS, Surabaya.
- Atlas, R., (1981), *“Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbons: an Environmental Perspective”*, Microbial Review, Vol. 45, No. 1, hal. 180-209.
- Basuki, T., (1994), *“Biopulping, Biobleaching, dan Biodegradasi Limbah Industri Pulp dan Kertas oleh Fungi Basidiomycetes Phanerochaete Chrysosporium”*, Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Baiocchi, C., (2001), *“Characterization of methyl orange and its photocatalytic degradation product by HPLC/UV-VIS diode array and atmospheric pressure ionization quadrupole ion trap mass spectrometry”*, Torino university, Italy.
- Benkli, Y., Can, M., dan Turan, C., (2005), *“Modification of Organo-zeolite Surface for Removal of Reactive Azo Dyes in Fixed-bed Reactors”*, Journal of Water Research, Vol. 39, hal. 487.
- Blanchette, R., Burnes, T., Leatham, F., dan Effland, M., (1988), *“Selection of white-rot fungi for biopulping”*, J Biomass, Vol. 15, hal. 93- 101.
- Bollag, W., (1992), *“Biodegradation in Encyclopedia of Microbiology”*, Academic Press Inc, New York.

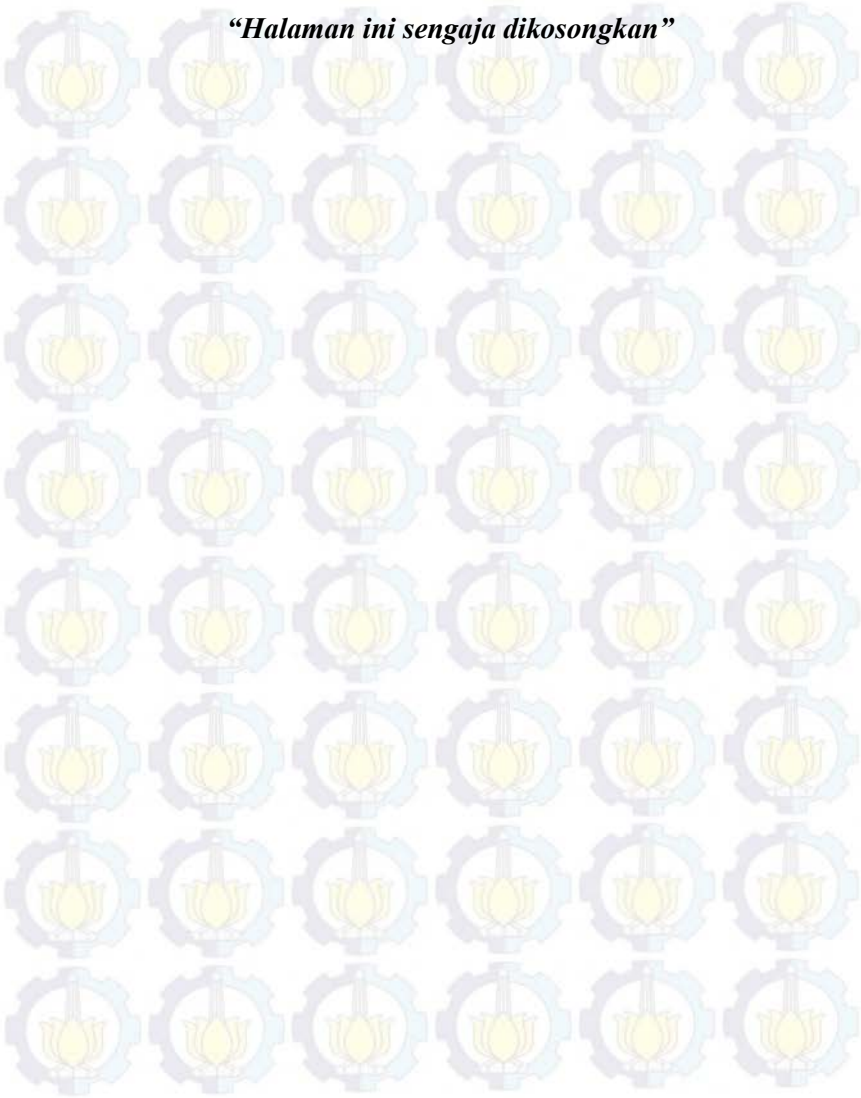
- Bumpus, J., (1987), "*Biodegradation DDT [1,1,1-dichloro-2,2-bis (4-chlorophenyl)ethane] by the White Rot Fungus Phanerochaete chrysosporium*", Applied and Enviromental Microbiology, Vol. 53, hal. 2001-2008.
- Cohen, R., Hadar, Y., dan Yarden, O., (2001), "*Transcript and activity levels of different Pleurotus ostreatus peroxidases are differentially affected by Mn^{2+}* ", Environ Microbiol, Vol. 3, hal. 312-322.
- Cooney, J., (1984), "*The Fate of Petroleum Pollutans In Fresh Water Ecosystem - Petroleum Microbiology*", Macmillan Publishing Co., hal. 400-433, New York.
- Cullen, D., dan Kersten P., (1996), "*The Mycota 3rd edition, A Comprehensive Treatise on Fungi as Experimental Systems for Basic and Applied Research:Enzymology and Molecular Biologyof Lignin Degradation*", Applied and Enviromental Microbiology , Vol. 53, hal. 2001-2008.
- Dibble, T., dan Bartha R., (1979), "*Effect of Environmental Parameters on The Biodegradation of Oil Sludge*", Applied and Enviromental Microbiology, Vol. 37, hal. 729-739.
- Djarijah, N., dan Djarijah, A., (2001), "*Budidaya jamur tiram*", Kanisius, Yogyakarta.
- Erickson, K., Blanchette, A., dan Ander, P., (1990), "*Microbiol and Enzymatic Degradation of Wood and Wood Component*", Spinger-Verlag, Berlin.
- Eris, R., (2006), "*Pengembangan Teknik Bioremediasi Dengan Slurry Bioreaktor Untuk Tanah Tercemar Minyak Diesel*", (Thesis) Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Hatakka, A., (1994), "*Lignin Modifying Enzyme from Selected White-rot Fungi: Production and Role in Lignin Degradation*", FEMS Microbiol Review. 13, hal. 125-135.

- Hatakka, A., (2001), "Biodegradation of lignin. *In Hofrichter M and Steinbuechel A. Eds Lignin, humic substances and coal*", FEMS Microbiol Review. 1, hal. 129-180.
- Hermawan, I., (2011), "*Analisis Dampak Kebijakan Makroekonomi Terhadap Perkembangan Industri Tekstil dan Produk Tekstil Indonesia*", Buletin Ekonomi dan Perbankan, hal. 373-406.
- Hermita, T., (2006), "*Analisa Fisiko Kimia*", UI Press, Jakarta.
- Howard, R., Abotsi L., dan Rensburg, E., (2003), "*Lignocellulose Biotechnology : Issues of Bioconversion and Enzyme Production*", African J of Biotechnol, Vol. 2, hal. 602-619.
- Dai, K., Chen, H., Peng, T., Ke, D., dan Yi, H., (2007), "*Photocatalytic degradation of methyl orange in aqueous suspension of mesoporous titania nanoparticle*", Chemosphere, Vol. 69, hal.1361-1367.
- Kim, M., Jae, R., Young, L., dan Hye, K., (2013), "*Breeding of a Long Shelf-Life Strain for Commercial Cultivation by Mono-mono crossing in Pleurotus Eryngii*", Scientia Horticulturae, Vol. 162, hal. 265-270.
- Maizatisna, (2007), "*Degradasi Zat Warna Naphtol Blue Black Secara Sonolisis dan Fotolisis dengan Penambahan TiO₂ Anatase*", Skripsi Universitas Andalas, Padang.
- Manurung, R., (2004), "*Perombakan Zat Warna Azo Reaktif Secara Anaerob-Aerob*", Repository USU, Sumatera.
- Maryam, R., (2007), "*Metode Deteksi Mokotoksin*", Jurnal Balai Penelitian Verteriner , Vol. 7, hal. 12-24.
- Mester, T., dan Tien, M., (2000), "*Oxidation Mechanism of Ligninolytic Enzymes Involved in the Degradation of Environmental Pollutants*", International Biodeterioration & Biodegradation, Vol. 46, hal. 51-59.
- Nugroho, dan Sigit, (2013), "*Elektrodegradasi Indigosol Golden Yellow Irik Dalam Limbah Batik dengan Elektroda Grafit*", Skripsi Jurusan Kimia Universitas Negeri Semarang, Semarang.

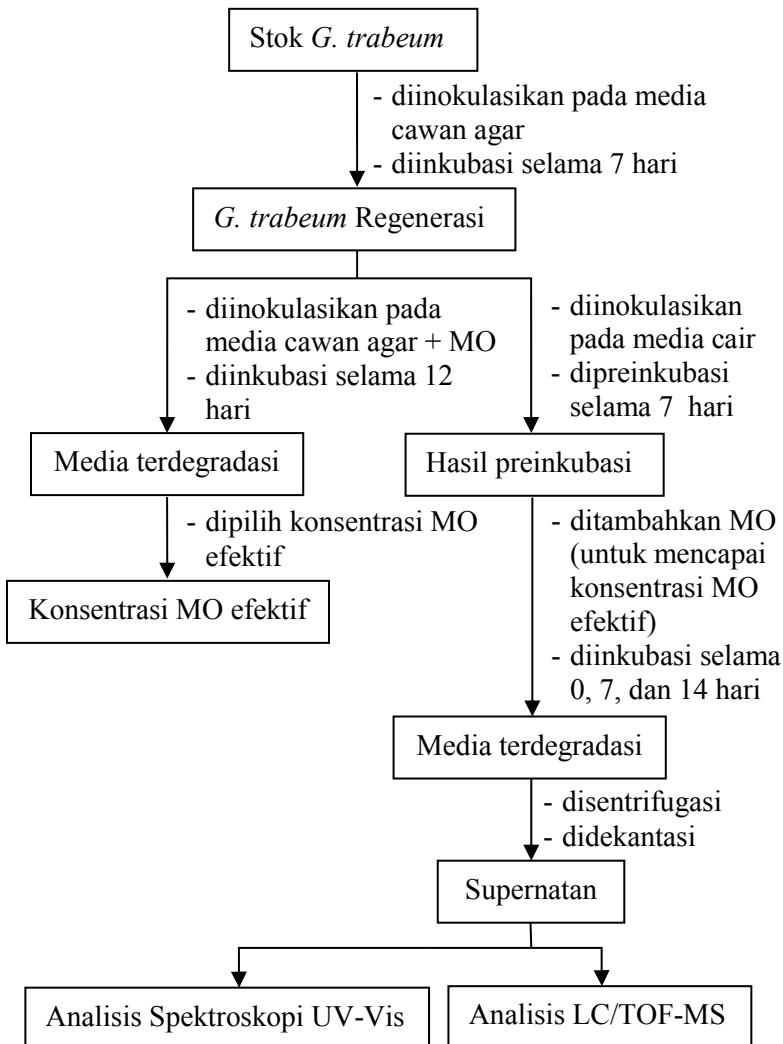
- Pelczar, M., Chan, S., (1988), "*Dasar-dasar Mikrobiologi*", Elements of Microbiology, UI Press, Jakarta.
- Purnomo, A. S., Mori T., dan Kondo, R., (2010), "*Involvement of Fenton reaction in DDT degradation by brown-rot fungi*", International Biodeterioration & Biodegradation, Vol. 64, hl. 560-565.
- Qodri, A., (2011), "*Fotodegradasi Zat Warna Remazol Yellow FG dengan Fotokatalis Komposit TiO_2/SiO_2* ", Skripsi Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta, Surakarta.
- Ramirez, C., (2012), "*Elektrochemical oxidation of methyl orange azo dye at pilot flow plan using BDD technology*", Journal of Industrial and Engineering Chemistry, Vol. 19, hal. 571-579.
- Rodriguez, E., (2004), "*Degradation of phenolic and non-phenolic aromatic pollutants by four Pleurotus species: the role of laccase and versatile Peroxidase*", Soil Biology & Biochemistry, Vol. 36, hal. 909-916.
- Setliff, E., dan Eudy, F., (1980), "*Screening white-rot fungi for their capacity delignify wood*", Microbiology, Chemistry, and Potential Application, Vol. 1, hal. 34-38.
- Sigit, A., (2008), "*Pola Aktivitas Enzim Lignolitik Jamur Tiram (Pleurotus Ostreatus) Pada Media Sludge Industri Kertas*", Skripsi Program Studi Biokimia Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Sugiharto, (1987), "*Dasar-dasar Pengolahan Air Limbah*", Cetakan I PAU Pangan dan Gizi, IPB, Bogor.
- Udiharto, M., (1996), "*Bioremediasi minyak bumi*", Vol. 96, hal. 24-39.
- Mauliddawati, V., (2014), "*Biodegradasi MO dengan jamur pelapuk coklat D. dickinsii*", ITS, Surabaya.
- Wariish, H., Dunford, B., Donald, D., dan Gold H., (1989), "*Manganese peroxidase from the lignin-degrading basidiomycete Phanerochaete chrysosporium: transient-*

- state kinetics and reaction mechanism*", Biochemistry, Vol. 264, hal. 3335-3340.
- Xiaolin, L., (2014), "*Preperation of 3D PbO₂ nanopheres@SnO₂ nanowires/Ti Elektrode and its Aplication in Methyl Orange Degradation*", Elektro Chimica Acta, Vol. 146, hal. 15-22.
- Yani, M., Fauzi A., dan Aribowo, F., (2003), "*Bioremediasi lahan terkontaminasi senyawa hidrokarbon*", Forum Bioremediasi IPB, Bogor.
- Yuniawati, S., (2006), "*Optimasi media dan inokulum jamur pelapuk putih untuk pengomposan TKKS*", Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Univeritas Pakuan, Bogor.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”



LAMPIRAN A SKEMA KERJA



LAMPIRAN B
PENGUKURAN DAN PERHITUNGAN

B.1 Media cawan agar

B.1.1 Pengukuran diameter miselium (DM) kontrol dan treatment pada media cawan agar

| Hari | DM kontrol | DM treatment (+MO) | | |
|------|------------|--------------------|---------|----------|
| | | 50 mg/L | 75 mg/L | 100 mg/L |
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | | 1 | 1 | 1 |
| 2 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | | 1 | 1 | 1 |
| 3 | 1,1 | 1,2 | 1,1 | 1 |
| | 1,2 | 1,2 | 1,1 | 1 |
| | | 1,3 | 1,2 | 1,2 |
| 4 | 1,3 | 1,6 | 1,8 | 1,9 |
| | 1,5 | 1,8 | 1,8 | 1,9 |
| | | 1,7 | 1,7 | 1,8 |
| 5 | 1,8 | 2,7 | 2,6 | 2,4 |
| | 1,9 | 2,8 | 2,6 | 2,5 |
| | | 2,7 | 2,6 | 2,6 |
| 6 | 2,4 | 3 | 3 | 3,1 |
| | 2,4 | 3 | 3 | 3 |
| | | 3,2 | 3,2 | 3,4 |
| 7 | 2,8 | 4 | 4,2 | 4,1 |
| | 2,9 | 4 | 4,3 | 4,2 |

| | | | | |
|-----------|-----|-----|-----|-----|
| | | 4,2 | 4,2 | 4,2 |
| 8 | 3,4 | 4,3 | 4,2 | 4,2 |
| | 3,7 | 4,4 | 4,3 | 4,2 |
| | | 4,4 | 4,4 | 4,4 |
| 9 | 3,9 | 4,6 | 4,5 | 4,7 |
| | 4,2 | 4,6 | 4,6 | 4,6 |
| | | 4,8 | 4,6 | 4,8 |
| 10 | 4,7 | 5 | 5,2 | 5,2 |
| | 4,9 | 5 | 5,3 | 5,3 |
| | | 5,4 | 5,4 | 5,3 |
| 11 | 5,3 | 5,2 | 5,3 | 5,2 |
| | 5,6 | 5,2 | 5,3 | 5,4 |
| | | 5,4 | 5,4 | 5,4 |
| 12 | 6,6 | 6 | 6,2 | 6 |
| | 6,9 | 6,1 | 6,3 | 6 |
| | | 6,2 | 6,4 | 6,4 |
| 13 | 7,7 | 7,2 | 7,2 | 7 |
| | 7,6 | 7,4 | 7,3 | 7,4 |
| | | 7 | 7 | 7,5 |
| 14 | 8,1 | 8 | 8,1 | 8 |
| | 8,2 | 8 | 8,2 | 8,1 |
| | | 8,1 | 8,2 | 8,1 |

B.1.2 Pengukuran diameter degradasi (DD) treatment pada media cawan agar

| Hari | DD treatment (+MO) | | |
|-------------|---------------------------|----------------|-----------------|
| | 50 mg/L | 75 mg/L | 100 mg/L |

| | | | |
|-----------|-----|-----|-----|
| 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 0 | 0 | 0 |
| | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 0 | 0 | 0 |
| | 0 | 0 | 0 |
| | 0 | 0 | 0 |
| 3 | 0 | 0 | 0 |
| | 0 | 0 | 0 |
| | 0 | 0 | 0 |
| 4 | 0 | 0 | 0 |
| | 0 | 0 | 0 |
| | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 1 | 1 | 0 |
| | 1 | 1 | 0 |
| | 1 | 1 | 0 |
| 6 | 1,2 | 1,1 | 1 |
| | 1,2 | 1,1 | 1 |
| | 1,2 | 1,1 | 1 |
| 7 | 2 | 1,7 | 1,4 |
| | 2 | 1,7 | 1,4 |
| | 1,8 | 1,8 | 1,5 |
| 8 | 2,9 | 2,9 | 2,4 |
| | 3 | 2,9 | 2,5 |
| | 3 | 2,8 | 2,3 |
| 9 | 3,1 | 3 | 2,4 |
| | 3,2 | 3 | 2,5 |
| | 3,2 | 3 | 2,5 |
| 10 | 3,6 | 3,4 | 2,7 |
| | 3,6 | 3,5 | 2,7 |

| | | | |
|-----------|-----|-----|-----|
| | 3,7 | 3,4 | 2,8 |
| 11 | 3,8 | 3,8 | 3 |
| | 4 | 3,7 | 3 |
| | 4 | 3,8 | 2,9 |
| 12 | 4,5 | 4,2 | 3,2 |
| | 4,6 | 4,2 | 3,2 |
| | 4,6 | 4,3 | 3,2 |
| 13 | 5,1 | 4,7 | 3,6 |
| | 5 | 4,7 | 3,8 |
| | 5 | 4,8 | 3,9 |
| 14 | 6 | 5,8 | 4,4 |
| | 6,1 | 5,7 | 4,6 |
| | 6,1 | 5,7 | 4,6 |

B.1.3 Perhitungan indeks degradasi (ID) treatment pada media cawan agar

| Hari | ID treatment (+MO) | | |
|-------------|---------------------------|----------------|-----------------|
| | 50 mg/L | 75 mg/L | 100 mg/L |
| 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 0 | 0 | 0 |
| | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 0 | 0 | 0 |
| | 0 | 0 | 0 |
| | 0 | 0 | 0 |
| 3 | 0 | 0 | 0 |
| | 0 | 0 | 0 |
| | 0 | 0 | 0 |

| | | | |
|-----------|-------|-------|-------|
| 4 | 0 | 0 | 0 |
| | 0 | 0 | 0 |
| | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 0,370 | 0,385 | 0 |
| | 0,357 | 0,385 | 0 |
| | 0,370 | 0,385 | 0 |
| 6 | 0,400 | 0,367 | 0,323 |
| | 0,400 | 0,367 | 0,333 |
| | 0,375 | 0,344 | 0,294 |
| 7 | 0,500 | 0,405 | 0,341 |
| | 0,500 | 0,395 | 0,333 |
| | 0,429 | 0,429 | 0,357 |
| 8 | 0,674 | 0,690 | 0,571 |
| | 0,682 | 0,674 | 0,595 |
| | 0,682 | 0,636 | 0,523 |
| 9 | 0,674 | 0,667 | 0,511 |
| | 0,696 | 0,652 | 0,543 |
| | 0,667 | 0,652 | 0,521 |
| 10 | 0,720 | 0,654 | 0,519 |
| | 0,720 | 0,660 | 0,509 |
| | 0,685 | 0,630 | 0,528 |
| 11 | 0,731 | 0,717 | 0,577 |
| | 0,769 | 0,698 | 0,556 |
| | 0,741 | 0,704 | 0,537 |
| 12 | 0,750 | 0,677 | 0,533 |
| | 0,754 | 0,667 | 0,533 |
| | 0,742 | 0,672 | 0,500 |
| 13 | 0,708 | 0,653 | 0,514 |
| | 0,676 | 0,644 | 0,514 |

| | | | |
|-----------|-------|-------|-------|
| | 0,714 | 0,686 | 0,520 |
| 14 | 0,750 | 0,716 | 0,550 |
| | 0,763 | 0,695 | 0,568 |
| | 0,753 | 0,695 | 0,568 |

B.1.4 Perhitungan rata – rata DM kontrol dan DM,DD, dan ID treatment pada MO dengan konsentrasi 75 g/L

| Hari | Kontrol | Treatment | | |
|-------------|----------------|------------------|-----------|-----------|
| | DM | DM | DD | ID |
| 1 | 1,000 | 1,000 | 0,000 | 0 |
| 2 | 1,000 | 1,000 | 0,000 | 0 |
| 3 | 1,150 | 1,133 | 0,000 | 0 |
| 4 | 1,400 | 1,767 | 0,000 | 0 |
| 5 | 1,850 | 2,600 | 1,000 | 0,385 |
| 6 | 2,400 | 3,067 | 1,100 | 0,359 |
| 7 | 2,850 | 4,233 | 1,733 | 0,41 |
| 8 | 3,550 | 4,300 | 2,867 | 0,667 |
| 9 | 4,050 | 4,567 | 3,000 | 0,657 |
| 10 | 4,800 | 5,300 | 3,433 | 0,648 |
| 11 | 5,450 | 5,333 | 3,767 | 0,706 |
| 12 | 6,750 | 6,300 | 4,233 | 0,672 |
| 13 | 7,650 | 7,167 | 4,733 | 0,661 |
| 14 | 8,150 | 8,167 | 5,733 | 0,702 |

B.2 Media Cair

b.2.1 Absorbansi kontrol media cair (larutan PDB + MO 75 mg/L)

| λ | Absorbansi kontrol | | | Rata-rata | Standar deviasi |
|-----------|--------------------|-------|-------|-----------|-----------------|
| | 1 | 2 | 3 | | |
| 400 | 0,946 | 0,955 | 0,952 | 0,951 | 0,0046 |
| 405 | 0,950 | 0,959 | 0,956 | 0,955 | 0,0046 |
| 410 | 0,952 | 0,961 | 0,958 | 0,957 | 0,0046 |
| 415 | 0,955 | 0,975 | 0,961 | 0,964 | 0,0103 |
| 420 | 0,959 | 0,979 | 0,965 | 0,968 | 0,0103 |
| 425 | 0,960 | 0,980 | 0,966 | 0,969 | 0,0103 |
| 430 | 0,968 | 0,988 | 0,974 | 0,977 | 0,0103 |
| 435 | 0,973 | 0,993 | 0,979 | 0,982 | 0,0103 |
| 440 | 0,978 | 0,998 | 0,984 | 0,987 | 0,0103 |
| 445 | 0,981 | 1,001 | 0,987 | 0,990 | 0,0103 |
| 450 | 0,982 | 1,001 | 0,987 | 0,991 | 0,0103 |
| 455 | 0,976 | 1,010 | 0,982 | 0,989 | 0,0181 |
| 460 | 0,964 | 0,998 | 0,970 | 0,977 | 0,0181 |
| 465 | 0,943 | 0,977 | 0,949 | 0,956 | 0,0181 |
| 470 | 0,914 | 0,948 | 0,920 | 0,927 | 0,0181 |
| 475 | 0,878 | 0,912 | 0,884 | 0,891 | 0,0181 |
| 480 | 0,834 | 0,868 | 0,840 | 0,847 | 0,0181 |
| 485 | 0,784 | 0,818 | 0,790 | 0,797 | 0,0181 |
| 490 | 0,728 | 0,762 | 0,734 | 0,741 | 0,0181 |
| 495 | 0,667 | 0,675 | 0,683 | 0,675 | 0,0080 |
| 500 | 0,601 | 0,609 | 0,617 | 0,609 | 0,0080 |
| 505 | 0,533 | 0,541 | 0,549 | 0,541 | 0,0080 |
| 510 | 0,465 | 0,473 | 0,481 | 0,473 | 0,0080 |
| 515 | 0,403 | 0,411 | 0,419 | 0,411 | 0,0080 |
| 520 | 0,340 | 0,348 | 0,356 | 0,348 | 0,0080 |
| 525 | 0,286 | 0,294 | 0,302 | 0,294 | 0,0080 |
| 530 | 0,238 | 0,251 | 0,259 | 0,249 | 0,0106 |

| | | | | | |
|------------|--------|-------|-------|-------|--------|
| 535 | 0,197 | 0,210 | 0,218 | 0,208 | 0,0106 |
| 540 | 0,161 | 0,174 | 0,182 | 0,172 | 0,0106 |
| 545 | 0,132 | 0,145 | 0,153 | 0,143 | 0,0106 |
| 550 | 0,108 | 0,121 | 0,117 | 0,115 | 0,0067 |
| 555 | 0,087 | 0,100 | 0,096 | 0,094 | 0,0067 |
| 560 | 0,071 | 0,084 | 0,080 | 0,078 | 0,0067 |
| 565 | 0,058 | 0,071 | 0,067 | 0,065 | 0,0067 |
| 570 | 0,048 | 0,061 | 0,056 | 0,055 | 0,0066 |
| 575 | 0,040 | 0,053 | 0,048 | 0,047 | 0,0066 |
| 580 | 0,035 | 0,044 | 0,043 | 0,041 | 0,0049 |
| 585 | 0,031 | 0,040 | 0,039 | 0,037 | 0,0049 |
| 590 | 0,027 | 0,036 | 0,035 | 0,033 | 0,0049 |
| 595 | 0,024 | 0,033 | 0,032 | 0,030 | 0,0049 |
| 600 | 0,020 | 0,029 | 0,028 | 0,026 | 0,0049 |
| 605 | 0,010 | 0,019 | 0,018 | 0,016 | 0,0049 |
| 610 | 0,016 | 0,025 | 0,024 | 0,022 | 0,0049 |
| 615 | 0,013 | 0,023 | 0,021 | 0,019 | 0,0053 |
| 620 | 0,012 | 0,022 | 0,020 | 0,018 | 0,0053 |
| 625 | 0,010 | 0,020 | 0,018 | 0,016 | 0,0053 |
| 630 | 0,008 | 0,016 | 0,016 | 0,013 | 0,0046 |
| 635 | 0,006 | 0,014 | 0,014 | 0,011 | 0,0046 |
| 640 | 0,005 | 0,013 | 0,062 | 0,027 | 0,0309 |
| 645 | 0,004 | 0,012 | 0,061 | 0,026 | 0,0309 |
| 650 | 0,001 | 0,009 | 0,058 | 0,023 | 0,0309 |
| 655 | 0,000 | 0,008 | 0,057 | 0,022 | 0,0309 |
| 660 | -0,002 | 0,006 | 0,055 | 0,020 | 0,0309 |
| 665 | -0,004 | 0,004 | 0,053 | 0,018 | 0,0309 |
| 670 | -0,005 | 0,003 | 0,052 | 0,017 | 0,0309 |
| 675 | -0,005 | 0,003 | 0,052 | 0,017 | 0,0309 |

| | | | | | |
|------------|--------|-------|-------|-------|--------|
| 680 | -0,004 | 0,004 | 0,053 | 0,018 | 0,0309 |
| 685 | -0,003 | 0,005 | 0,054 | 0,019 | 0,0309 |
| 690 | -0,003 | 0,017 | 0,000 | 0,005 | 0,0108 |
| 695 | -0,001 | 0,019 | 0,002 | 0,007 | 0,0108 |
| 700 | 0,000 | 0,020 | 0,045 | 0,022 | 0,0225 |
| 705 | 0,000 | 0,020 | 0,045 | 0,022 | 0,0225 |
| 710 | 0,000 | 0,020 | 0,045 | 0,022 | 0,0225 |
| 715 | 0,000 | 0,020 | 0,045 | 0,022 | 0,0225 |
| 720 | 0,001 | 0,021 | 0,046 | 0,023 | 0,0225 |
| 725 | 0,000 | 0,020 | 0,045 | 0,022 | 0,0225 |
| 730 | 0,001 | 0,021 | 0,046 | 0,023 | 0,0225 |
| 735 | 0,000 | 0,020 | 0,045 | 0,022 | 0,0225 |
| 740 | 0,001 | 0,021 | 0,046 | 0,023 | 0,0225 |
| 745 | 0,001 | 0,021 | 0,046 | 0,023 | 0,0225 |
| 750 | 0,003 | 0,013 | 0,048 | 0,021 | 0,0236 |

B.2.2 Absorbansi treatment MO 75 mg/L pada hari ke 0

| λ | Absorbansi treatment H 0 | | | Rata- rata | Standar deviasi |
|------------|-----------------------------|-------|-------|---------------|--------------------|
| | 1 | 2 | 3 | | |
| 400 | 0,892 | 0,922 | 0,927 | 0,914 | 0,0189 |
| 405 | 0,896 | 0,926 | 0,931 | 0,918 | 0,0189 |
| 410 | 0,898 | 0,928 | 0,933 | 0,920 | 0,0189 |
| 415 | 0,901 | 0,931 | 0,936 | 0,923 | 0,0189 |
| 420 | 0,905 | 0,935 | 0,940 | 0,927 | 0,0189 |
| 425 | 0,906 | 0,936 | 0,941 | 0,928 | 0,0189 |
| 430 | 0,914 | 0,934 | 0,939 | 0,929 | 0,0132 |
| 435 | 0,919 | 0,939 | 0,944 | 0,934 | 0,0132 |
| 440 | 0,924 | 0,944 | 0,949 | 0,939 | 0,0132 |

| | | | | | |
|------------|-------|-------|-------|-------|--------|
| 445 | 0,927 | 0,947 | 0,952 | 0,942 | 0,0132 |
| 450 | 0,927 | 0,947 | 0,952 | 0,942 | 0,0132 |
| 455 | 0,922 | 0,932 | 0,937 | 0,930 | 0,0076 |
| 460 | 0,910 | 0,920 | 0,925 | 0,918 | 0,0076 |
| 465 | 0,889 | 0,899 | 0,904 | 0,897 | 0,0076 |
| 470 | 0,860 | 0,870 | 0,875 | 0,868 | 0,0076 |
| 475 | 0,824 | 0,834 | 0,839 | 0,832 | 0,0076 |
| 480 | 0,780 | 0,790 | 0,795 | 0,788 | 0,0076 |
| 485 | 0,730 | 0,760 | 0,765 | 0,752 | 0,0189 |
| 490 | 0,674 | 0,704 | 0,709 | 0,696 | 0,0189 |
| 495 | 0,613 | 0,643 | 0,619 | 0,625 | 0,0159 |
| 500 | 0,547 | 0,577 | 0,553 | 0,559 | 0,0159 |
| 505 | 0,479 | 0,509 | 0,485 | 0,491 | 0,0159 |
| 510 | 0,411 | 0,420 | 0,417 | 0,416 | 0,0046 |
| 515 | 0,349 | 0,358 | 0,355 | 0,354 | 0,0046 |
| 520 | 0,286 | 0,295 | 0,292 | 0,291 | 0,0046 |
| 525 | 0,232 | 0,241 | 0,238 | 0,237 | 0,0046 |
| 530 | 0,184 | 0,193 | 0,190 | 0,189 | 0,0046 |
| 535 | 0,143 | 0,152 | 0,149 | 0,148 | 0,0046 |
| 540 | 0,107 | 0,116 | 0,113 | 0,112 | 0,0046 |
| 545 | 0,078 | 0,087 | 0,084 | 0,083 | 0,0046 |
| 550 | 0,054 | 0,063 | 0,060 | 0,059 | 0,0046 |
| 555 | 0,050 | 0,059 | 0,056 | 0,055 | 0,0046 |
| 560 | 0,048 | 0,057 | 0,054 | 0,053 | 0,0046 |
| 565 | 0,035 | 0,044 | 0,041 | 0,040 | 0,0046 |
| 570 | 0,025 | 0,034 | 0,031 | 0,030 | 0,0046 |
| 575 | 0,017 | 0,026 | 0,023 | 0,022 | 0,0046 |
| 580 | 0,012 | 0,021 | 0,018 | 0,017 | 0,0046 |
| 585 | 0,008 | 0,017 | 0,014 | 0,013 | 0,0046 |

| | | | | | |
|------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 590 | 0,004 | 0,013 | 0,010 | 0,009 | 0,0046 |
| 595 | 0,001 | 0,010 | 0,007 | 0,006 | 0,0046 |
| 600 | -0,003 | 0,006 | 0,003 | 0,002 | 0,0046 |
| 605 | -0,013 | -0,004 | -0,007 | -0,008 | 0,0046 |
| 610 | -0,007 | 0,002 | -0,001 | -0,002 | 0,0046 |
| 615 | -0,010 | -0,001 | -0,004 | -0,005 | 0,0046 |
| 620 | -0,011 | -0,002 | -0,005 | -0,006 | 0,0046 |
| 625 | -0,013 | -0,005 | -0,007 | -0,008 | 0,0042 |
| 630 | -0,015 | -0,007 | -0,009 | -0,010 | 0,0042 |
| 635 | -0,017 | -0,009 | -0,011 | -0,012 | 0,0042 |
| 640 | -0,018 | -0,010 | 0,010 | -0,006 | 0,0144 |
| 645 | -0,019 | -0,011 | 0,009 | -0,007 | 0,0144 |
| 650 | -0,022 | -0,014 | 0,006 | -0,010 | 0,0144 |
| 655 | -0,023 | -0,015 | 0,005 | -0,011 | 0,0144 |
| 660 | -0,025 | -0,017 | 0,003 | -0,013 | 0,0144 |
| 665 | -0,027 | -0,019 | 0,001 | -0,015 | 0,0144 |
| 670 | -0,028 | -0,020 | 0,000 | -0,016 | 0,0144 |
| 675 | -0,028 | -0,020 | 0,000 | -0,016 | 0,0144 |
| 680 | -0,027 | -0,019 | 0,001 | -0,015 | 0,0144 |
| 685 | -0,026 | -0,018 | 0,002 | -0,014 | 0,0144 |
| 690 | -0,026 | -0,018 | 0,002 | -0,014 | 0,0144 |
| 695 | -0,024 | -0,016 | 0,004 | -0,012 | 0,0144 |
| 700 | -0,023 | -0,015 | 0,005 | -0,011 | 0,0144 |
| 705 | -0,023 | -0,015 | 0,005 | -0,011 | 0,0144 |
| 710 | -0,023 | -0,015 | 0,005 | -0,011 | 0,0144 |
| 715 | -0,023 | -0,015 | 0,005 | -0,011 | 0,0144 |
| 720 | -0,022 | -0,014 | 0,006 | -0,010 | 0,0144 |
| 725 | -0,023 | -0,015 | -0,006 | -0,015 | 0,0085 |
| 730 | -0,022 | -0,014 | -0,005 | -0,014 | 0,0085 |

| | | | | | |
|------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 735 | -0,023 | -0,015 | -0,006 | -0,015 | 0,0085 |
| 740 | -0,022 | -0,014 | -0,005 | -0,014 | 0,0085 |
| 745 | -0,022 | -0,014 | -0,005 | -0,014 | 0,0085 |
| 750 | -0,020 | -0,012 | -0,003 | -0,012 | 0,0085 |

B.2.3 Absorbansi treatment MO 75 mg/L pada hari ke 7

| λ | H 7 | | | Rata-rata | Standar deviasi |
|------------|------------|----------|----------|------------------|------------------------|
| | 1 | 2 | 3 | | |
| 400 | 0,318 | 0,375 | 0,410 | 0,368 | 0,0464 |
| 405 | 0,348 | 0,405 | 0,440 | 0,398 | 0,0464 |
| 410 | 0,375 | 0,432 | 0,467 | 0,425 | 0,0464 |
| 415 | 0,400 | 0,449 | 0,484 | 0,444 | 0,0422 |
| 420 | 0,424 | 0,473 | 0,508 | 0,468 | 0,0422 |
| 425 | 0,446 | 0,495 | 0,530 | 0,490 | 0,0422 |
| 430 | 0,466 | 0,515 | 0,550 | 0,510 | 0,0422 |
| 435 | 0,486 | 0,535 | 0,570 | 0,530 | 0,0422 |
| 440 | 0,504 | 0,553 | 0,588 | 0,548 | 0,0422 |
| 445 | 0,521 | 0,570 | 0,605 | 0,565 | 0,0422 |
| 450 | 0,537 | 0,582 | 0,617 | 0,579 | 0,0401 |
| 455 | 0,549 | 0,594 | 0,629 | 0,591 | 0,0401 |
| 460 | 0,557 | 0,602 | 0,627 | 0,595 | 0,0355 |
| 465 | 0,559 | 0,604 | 0,629 | 0,597 | 0,0355 |
| 470 | 0,555 | 0,600 | 0,625 | 0,593 | 0,0355 |
| 475 | 0,543 | 0,588 | 0,613 | 0,581 | 0,0355 |
| 480 | 0,522 | 0,567 | 0,592 | 0,560 | 0,0355 |
| 485 | 0,495 | 0,540 | 0,565 | 0,533 | 0,0355 |
| 490 | 0,460 | 0,500 | 0,525 | 0,495 | 0,0328 |
| 495 | 0,421 | 0,461 | 0,486 | 0,456 | 0,0328 |

| | | | | | |
|------------|--------|-------|-------|-------|--------|
| 500 | 0,377 | 0,417 | 0,442 | 0,412 | 0,0328 |
| 505 | 0,331 | 0,371 | 0,391 | 0,364 | 0,0306 |
| 510 | 0,283 | 0,323 | 0,343 | 0,316 | 0,0306 |
| 515 | 0,239 | 0,279 | 0,299 | 0,272 | 0,0306 |
| 520 | 0,196 | 0,236 | 0,256 | 0,229 | 0,0306 |
| 525 | 0,159 | 0,199 | 0,219 | 0,192 | 0,0306 |
| 530 | 0,130 | 0,170 | 0,190 | 0,163 | 0,0306 |
| 535 | 0,099 | 0,139 | 0,159 | 0,132 | 0,0306 |
| 540 | 0,075 | 0,115 | 0,135 | 0,108 | 0,0306 |
| 545 | 0,057 | 0,097 | 0,117 | 0,090 | 0,0306 |
| 550 | 0,042 | 0,082 | 0,102 | 0,075 | 0,0306 |
| 555 | 0,030 | 0,070 | 0,090 | 0,063 | 0,0306 |
| 560 | 0,022 | 0,062 | 0,082 | 0,055 | 0,0306 |
| 565 | 0,015 | 0,055 | 0,075 | 0,048 | 0,0306 |
| 570 | 0,011 | 0,051 | 0,071 | 0,044 | 0,0306 |
| 575 | 0,008 | 0,048 | 0,063 | 0,040 | 0,0284 |
| 580 | 0,005 | 0,045 | 0,060 | 0,037 | 0,0284 |
| 585 | 0,004 | 0,044 | 0,059 | 0,036 | 0,0284 |
| 590 | 0,003 | 0,043 | 0,058 | 0,035 | 0,0284 |
| 595 | 0,002 | 0,042 | 0,057 | 0,034 | 0,0284 |
| 600 | 0,002 | 0,042 | 0,057 | 0,034 | 0,0284 |
| 605 | 0,001 | 0,041 | 0,056 | 0,033 | 0,0284 |
| 610 | 0,001 | 0,036 | 0,051 | 0,029 | 0,0257 |
| 615 | 0,001 | 0,036 | 0,051 | 0,029 | 0,0257 |
| 620 | 0,000 | 0,035 | 0,050 | 0,028 | 0,0257 |
| 625 | -0,001 | 0,034 | 0,049 | 0,027 | 0,0257 |
| 630 | -0,001 | 0,034 | 0,049 | 0,027 | 0,0257 |
| 635 | -0,002 | 0,033 | 0,048 | 0,026 | 0,0257 |
| 640 | -0,001 | 0,024 | 0,039 | 0,021 | 0,0202 |

| | | | | | |
|------------|--------|-------|-------|-------|--------|
| 645 | -0,002 | 0,023 | 0,038 | 0,020 | 0,0202 |
| 650 | -0,004 | 0,021 | 0,036 | 0,018 | 0,0202 |
| 655 | -0,004 | 0,021 | 0,036 | 0,018 | 0,0202 |
| 660 | -0,005 | 0,020 | 0,035 | 0,017 | 0,0202 |
| 665 | -0,006 | 0,019 | 0,034 | 0,016 | 0,0202 |
| 670 | -0,005 | 0,020 | 0,035 | 0,017 | 0,0202 |
| 675 | -0,005 | 0,020 | 0,035 | 0,017 | 0,0202 |
| 680 | -0,003 | 0,022 | 0,037 | 0,019 | 0,0202 |
| 685 | -0,003 | 0,022 | 0,067 | 0,029 | 0,0355 |
| 690 | -0,001 | 0,024 | 0,069 | 0,031 | 0,0355 |
| 695 | 0,000 | 0,025 | 0,070 | 0,032 | 0,0355 |
| 700 | 0,001 | 0,026 | 0,071 | 0,033 | 0,0355 |
| 705 | 0,002 | 0,027 | 0,072 | 0,034 | 0,0355 |
| 710 | 0,002 | 0,027 | 0,072 | 0,034 | 0,0355 |
| 715 | 0,002 | 0,027 | 0,072 | 0,034 | 0,0355 |
| 720 | 0,003 | 0,028 | 0,073 | 0,035 | 0,0355 |
| 725 | 0,002 | 0,027 | 0,072 | 0,034 | 0,0355 |
| 730 | 0,001 | 0,017 | 0,062 | 0,027 | 0,0316 |
| 735 | 0,003 | 0,019 | 0,064 | 0,029 | 0,0316 |
| 740 | 0,001 | 0,017 | 0,062 | 0,027 | 0,0316 |
| 745 | 0,004 | 0,020 | 0,065 | 0,030 | 0,0316 |
| 750 | 0,004 | 0,020 | 0,065 | 0,030 | 0,0316 |

B.2.4 Absorbansi treatment MO 75 mg/L pada hari ke 14

| λ | H 14 | | | Rata-rata | Standar deviasi |
|------------|-------------|----------|----------|------------------|------------------------|
| | 1 | 2 | 3 | | |
| 400 | 0,253 | 0,329 | 0,317 | 0,300 | 0,0409 |
| 405 | 0,283 | 0,359 | 0,347 | 0,330 | 0,0409 |

| | | | | | |
|------------|-------|-------|-------|-------|--------|
| 410 | 0,310 | 0,386 | 0,374 | 0,357 | 0,0409 |
| 415 | 0,335 | 0,411 | 0,399 | 0,382 | 0,0409 |
| 420 | 0,359 | 0,435 | 0,423 | 0,406 | 0,0409 |
| 425 | 0,381 | 0,457 | 0,445 | 0,428 | 0,0409 |
| 430 | 0,401 | 0,477 | 0,465 | 0,448 | 0,0409 |
| 435 | 0,421 | 0,497 | 0,485 | 0,468 | 0,0409 |
| 440 | 0,439 | 0,504 | 0,517 | 0,487 | 0,0418 |
| 445 | 0,456 | 0,521 | 0,534 | 0,504 | 0,0418 |
| 450 | 0,472 | 0,537 | 0,550 | 0,520 | 0,0418 |
| 455 | 0,484 | 0,549 | 0,562 | 0,532 | 0,0418 |
| 460 | 0,492 | 0,557 | 0,570 | 0,540 | 0,0418 |
| 465 | 0,494 | 0,559 | 0,572 | 0,542 | 0,0418 |
| 470 | 0,490 | 0,555 | 0,568 | 0,538 | 0,0418 |
| 475 | 0,478 | 0,543 | 0,556 | 0,526 | 0,0418 |
| 480 | 0,457 | 0,522 | 0,535 | 0,505 | 0,0418 |
| 485 | 0,430 | 0,465 | 0,508 | 0,468 | 0,0391 |
| 490 | 0,395 | 0,430 | 0,473 | 0,433 | 0,0391 |
| 495 | 0,356 | 0,391 | 0,434 | 0,394 | 0,0391 |
| 500 | 0,312 | 0,347 | 0,390 | 0,350 | 0,0391 |
| 505 | 0,266 | 0,301 | 0,344 | 0,304 | 0,0391 |
| 510 | 0,218 | 0,253 | 0,296 | 0,256 | 0,0391 |
| 515 | 0,174 | 0,209 | 0,252 | 0,212 | 0,0391 |
| 520 | 0,131 | 0,166 | 0,209 | 0,169 | 0,0391 |
| 525 | 0,094 | 0,129 | 0,172 | 0,132 | 0,0391 |
| 530 | 0,065 | 0,100 | 0,143 | 0,103 | 0,0391 |
| 535 | 0,034 | 0,069 | 0,112 | 0,072 | 0,0391 |
| 540 | 0,010 | 0,045 | 0,088 | 0,048 | 0,0391 |
| 545 | 0,010 | 0,045 | 0,019 | 0,025 | 0,0182 |
| 550 | 0,010 | 0,045 | 0,019 | 0,025 | 0,0182 |

| | | | | | |
|------------|--------|-------|-------|-------|--------|
| 555 | 0,000 | 0,035 | 0,009 | 0,015 | 0,0182 |
| 560 | 0,000 | 0,035 | 0,078 | 0,038 | 0,0391 |
| 565 | 0,010 | 0,045 | 0,088 | 0,048 | 0,0391 |
| 570 | 0,013 | 0,048 | 0,091 | 0,051 | 0,0391 |
| 575 | 0,014 | 0,049 | 0,092 | 0,052 | 0,0391 |
| 580 | 0,014 | 0,049 | 0,092 | 0,052 | 0,0391 |
| 585 | 0,013 | 0,048 | 0,091 | 0,051 | 0,0391 |
| 590 | 0,019 | 0,054 | 0,097 | 0,057 | 0,0391 |
| 595 | 0,016 | 0,051 | 0,094 | 0,054 | 0,0391 |
| 600 | 0,014 | 0,041 | 0,092 | 0,049 | 0,0396 |
| 605 | 0,012 | 0,039 | 0,090 | 0,047 | 0,0396 |
| 610 | 0,011 | 0,038 | 0,089 | 0,046 | 0,0396 |
| 615 | 0,009 | 0,036 | 0,087 | 0,044 | 0,0396 |
| 620 | 0,008 | 0,035 | 0,086 | 0,043 | 0,0396 |
| 625 | 0,006 | 0,033 | 0,084 | 0,041 | 0,0396 |
| 630 | 0,005 | 0,032 | 0,063 | 0,033 | 0,0290 |
| 635 | 0,004 | 0,031 | 0,062 | 0,032 | 0,0290 |
| 640 | 0,003 | 0,030 | 0,061 | 0,031 | 0,0290 |
| 645 | 0,002 | 0,029 | 0,060 | 0,030 | 0,0290 |
| 650 | 0,000 | 0,027 | 0,058 | 0,028 | 0,0290 |
| 655 | -0,002 | 0,025 | 0,056 | 0,026 | 0,0290 |
| 660 | -0,002 | 0,025 | 0,056 | 0,026 | 0,0290 |
| 665 | -0,004 | 0,023 | 0,054 | 0,024 | 0,0290 |
| 670 | -0,004 | 0,023 | 0,054 | 0,024 | 0,0290 |
| 675 | -0,004 | 0,023 | 0,054 | 0,024 | 0,0290 |
| 680 | -0,004 | 0,023 | 0,054 | 0,024 | 0,0290 |
| 685 | -0,002 | 0,025 | 0,088 | 0,037 | 0,0462 |
| 690 | -0,001 | 0,026 | 0,089 | 0,038 | 0,0462 |
| 695 | -0,001 | 0,026 | 0,049 | 0,025 | 0,0250 |

| | | | | | |
|------------|-------|-------|--------|-------|--------|
| 700 | 0,002 | 0,029 | 0,052 | 0,028 | 0,0250 |
| 705 | 0,002 | 0,029 | 0,052 | 0,028 | 0,0250 |
| 710 | 0,002 | 0,029 | 0,052 | 0,028 | 0,0250 |
| 715 | 0,001 | 0,028 | 0,051 | 0,027 | 0,0250 |
| 720 | 0,003 | 0,030 | 0,053 | 0,029 | 0,0250 |
| 725 | 0,002 | 0,021 | 0,044 | 0,022 | 0,0210 |
| 730 | 0,000 | 0,019 | 0,042 | 0,020 | 0,0210 |
| 735 | 0,001 | 0,020 | -0,008 | 0,004 | 0,0143 |
| 740 | 0,001 | 0,020 | -0,008 | 0,004 | 0,0143 |
| 745 | 0,002 | 0,021 | -0,007 | 0,005 | 0,0143 |
| 750 | 0,001 | 0,020 | -0,008 | 0,004 | 0,0143 |

B.2.5 Prosentase dekolorisasi treatment

Persamaan untuk memperoleh prosentase dekolorisasi adalah:

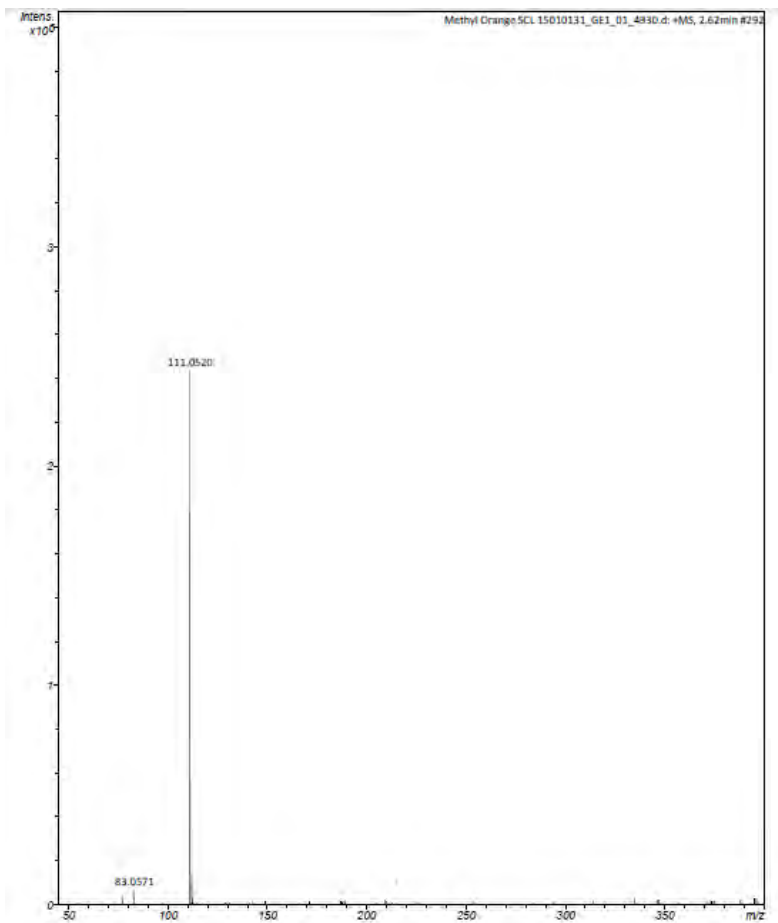
$$\%PD = \frac{Abs_0 - Abst}{Abs_0} \times 100 \%$$

Dimana : Abs_0 adalah absorbansi kontrol
 Abs_t adalah absorbansi treatment

| Hari ke | Absorbansi kontrol | Absorbansi treatment | % PD |
|----------------|---------------------------|-----------------------------|-------------|
| 0 | 0,991 | 0,942 | 4,94 |
| 7 | 0,991 | 0,579 | 41,57 |
| 14 | 0,991 | 0,520 | 47,53 |

LAMPIRAN C ANALISIS LC-MS

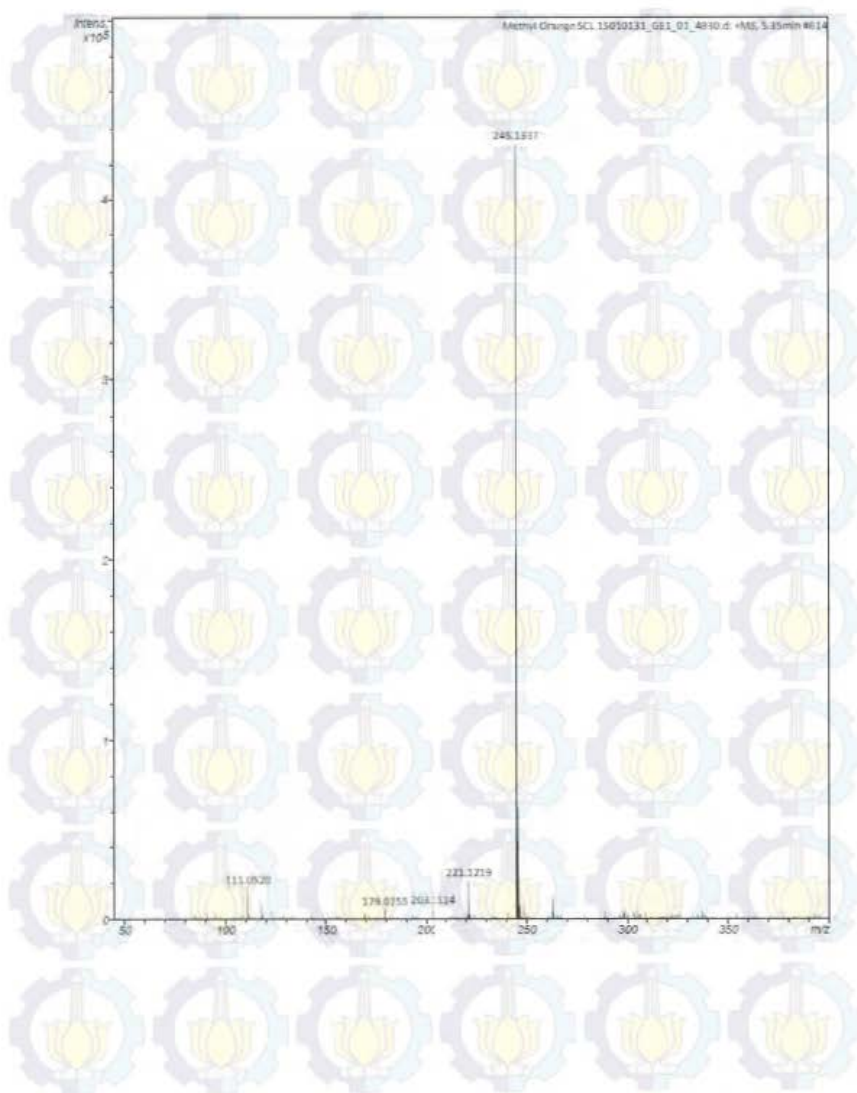
C.1 puncak m/z pada waktu retensi 2,6 menit



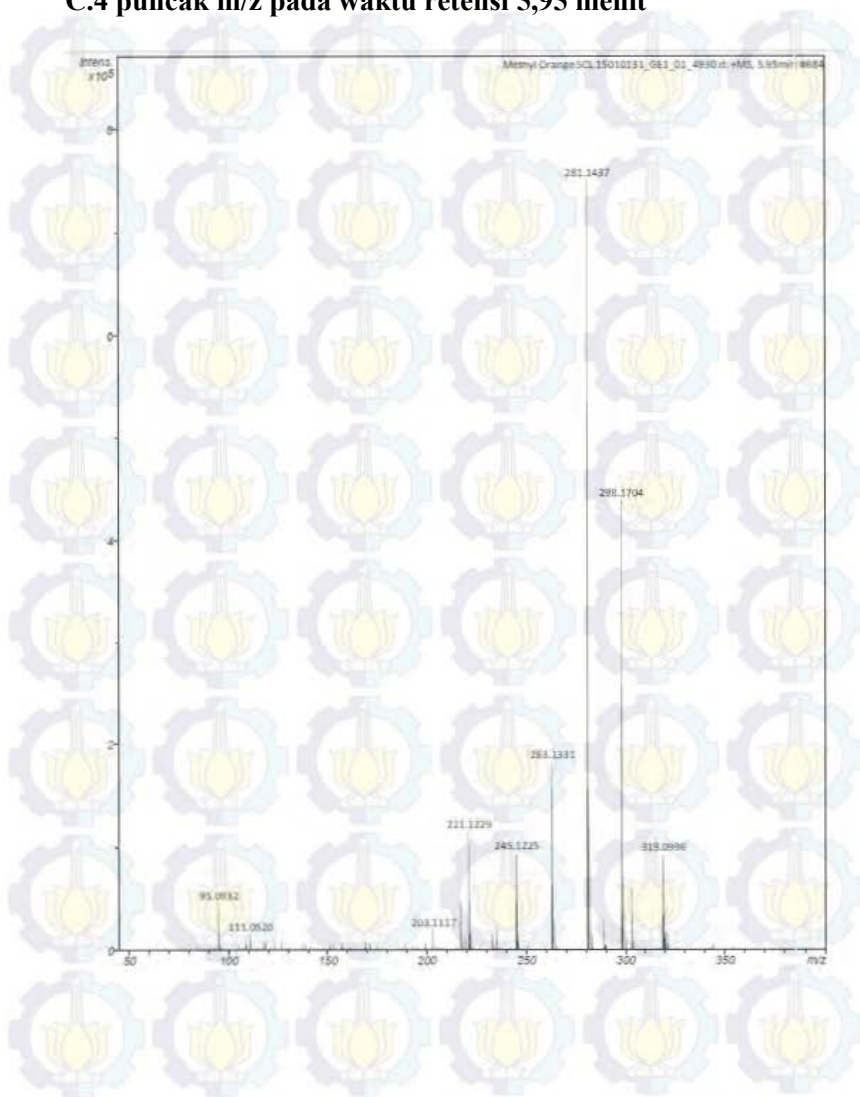
C.2 puncak m/z pada waktu retensi 4,22 menit



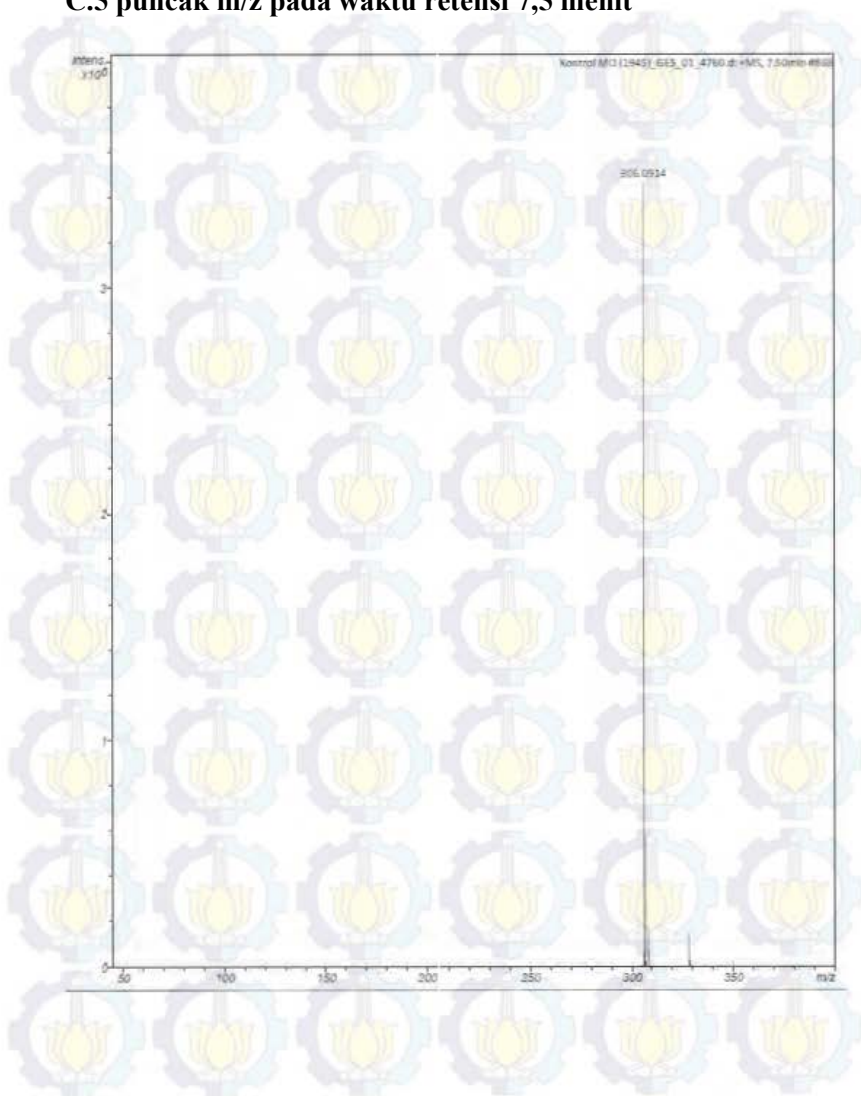
C.3 puncak m/z pada waktu retensi 5,35 menit



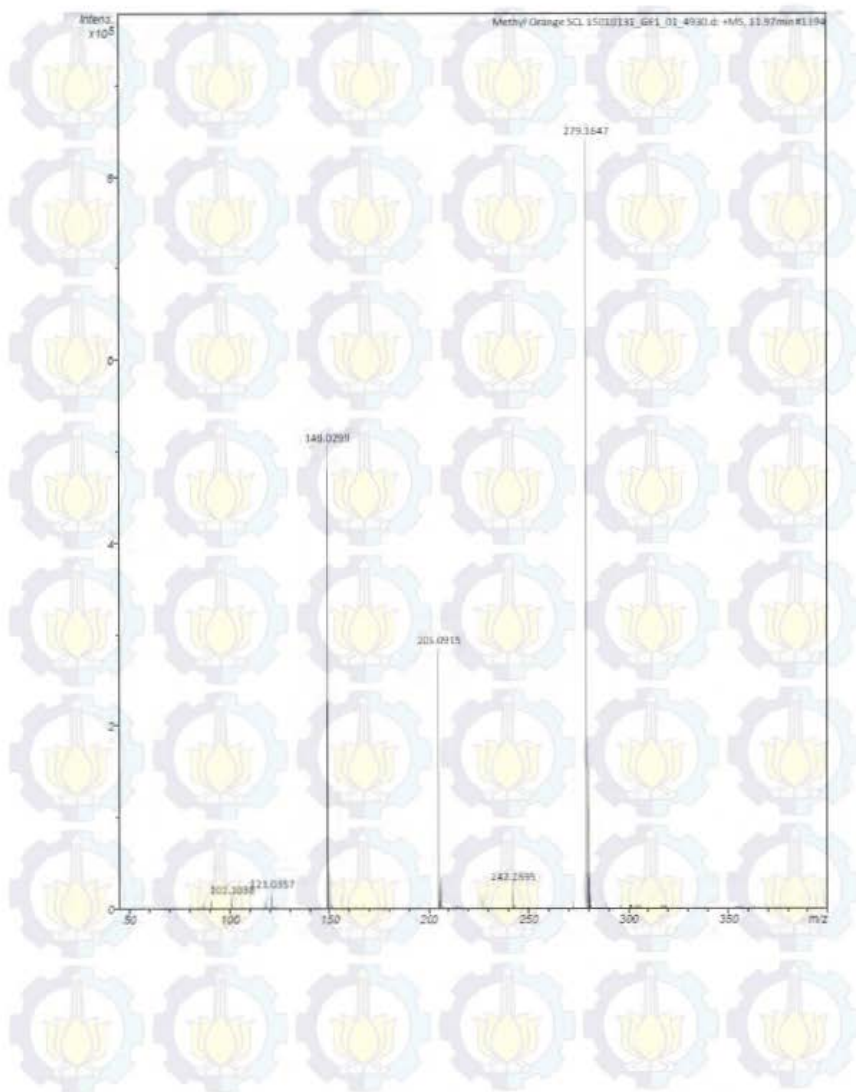
C.4 puncak m/z pada waktu retensi 5,95 menit



C.5 puncak m/z pada waktu retensi 7,5 menit



C.6 puncak m/z pada waktu retensi 11,97 menit



BIODATA PENULIS



Nama lengkap Mohammad Khoirudin, lahir di Jember pada 16 Agustus 1992. Penulis telah menempuh pendidikan formal di SDN Wirowongso 02, Jember (1998-2004), SMP Negeri 08 Jember (2004-2007), SMA Negeri 02 Jember (2007-2010). Setelah lulus SMA penulis melanjutkan ke jenjang pendidikan S1 di jurusan Kimia FMIPA-ITS Surabaya, dengan nomer induk (NRP)

1410100077. Selama kuliah penulis aktif di berbagai organisasi kemahasiswaan yaitu Divisi Wacana dan Jurnalistik HIMKA ITS (2011-2012), Departement PPSDI CIS (2011-2012), diluar kampus penulis juga aktif di organisasi Himpunan Mahasiswa Surabaya (HIMASA) (2010-2012). Beberapa pelatihan yang telah diikuti oleh penulis antara lain LKMM Pra-TD FMIPA, LKMM TD HIMKA, pelatihan Jurnalistik, dan pelatihan Instrumentasi. Selama perkuliahan penulis telah banyak sekali mendapat bimbingan dan masukan serta pengarahan dari Drs. Djarot Sugiarso, MS selaku dosen wali. Penulis mengambil Tugas Akhir di bidang Kimia Mikroorganisme dibawah bimbingan Adi Setyo Purnomo, M.Sc, Ph.D. Dalam menyelesaikan jenjang pendidikan S1 di Jurusan Kimia FMIPA ITS. Semoga hasil penelitian yang ditulis dalam naskah tugas akhir ini dapat memberikan manfaat bagi para pembaca dan dapat memberikan inspirasi untuk kemajuan ilmu pengetahuan, khususnya di bidang ilmu Kimia. Penulis dapat dihubungi melalui *email* mohammadkhoirudin46@gmail.com.